

Aus der neurologischen Abteilung
im Klinikum Charlottenburg
der Freien Universität Berlin
FB 3 WE 10
Leiter: Prof. Dr. D. Janz

AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN AN LIQUORZELLEN

Inaugural-Dissertation
zur
Erlangung der medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen
der Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wilhelm Thamm
aus Wannweil/Reutlingen

1983



Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41546607_0013

Aus der neurologischen Abteilung im
Klinikum Charlottenburg der Freien Universität Berlin

FB 3 WE 10

Leiter: Prof. Dr. D. Janz

**AUTORADIOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN
AN LIQUORZELLEN**

Inaugural Dissertation zur Erlangung der
medizinischen Doktorwürde
an den Medizinischen Fachbereichen der
Freien Universität Berlin

vorgelegt von
Wilhelm Thamm
aus Wannweil/Reutlingen

Referent: Priv.-Dozent Dr. med. H.W. Kölmel

Koreferent: Prof. Dr. F. Hanefeld

**Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin**

Promoviert am: 29. Juni 1983

INHALTSVERZEICHNIS

0.	Einleitung	3
1.	Theoretische Bemerkungen zur ARG	5
1.1	Arten ionisierender Strahlen und ihre Anwendung in der ARG	5
1.1.1	Markierung	5
1.1.2	Emulsion	5
1.1.3	Einige mit der ARG verbundene Effekte	6
1.1.4	Auflösungsvermögen	8
1.2	Techniken der ARG	9
1.2.1	Thymidinstoffwechsel und Einbau in die DNS	9
1.2.2	Der Zellzyklus	10
2.	Methoden	12
2.1	Stripping-Film-Verfahren	12
2.2	Flüssigemulsionstechnik-Dipping-Verfahren	13
2.2.1	Emulsionsdicke	13
2.2.2	Fehlerquellen	14
2.3	Beschreibung der Arbeitsgänge	15
2.3.1	Zellanreicherung	15
2.3.2	Markierung	16
2.3.3	Emulsion	17
2.3.4	Lagerung	18
2.3.5	Entwicklung und Fixierung	18
2.3.6	Auswertung (allgemein)	19
3.	Darstellung und Auswertung der Untersuchungsbefunde	20
	Tabelle 1: Autochthone Hirntumoren	21
	Tabelle 2: Metastasierende Tumoren (Hirn- und Meningeal- metastasen)	25
	Tabelle 3: Entzündliche Erkrankungen	27
	Tabelle 4: Nicht-entzündliche Erkrankungen	28
	Tabelle 5: Liquor bei frühkindlichem Hydrozephalus	29
	Tabelle 6: Meningiosis leucämica	30
	Darstellung des Gesamtergebnisses	31
3.1	Autochthone Hirntumoren	32
3.2	Metastasierende Tumoren (Hirn- und Meningealmetastasen)	37
3.3	Nicht-neoplastische Erkrankungen	52
3.3.1	Entzündliche Erkrankungen	52
3.3.2	Nicht-entzündliche Erkrankungen	53
3.3.3	Liquor bei frühkindlichem Hydrozephalus	54
3.4	Meningiosis leucämica	57

4.	Diskussion	61
4.1	Autochthone Hirntumoren	61
4.2	Hirn- und Meningealmetastasen	65
4.3	Nicht-neoplastische Erkrankungen des ZNS	68
4.3.1	Entzündliche - nicht-entzündliche Erkrankungen	68
4.3.2	Liquor bei frühkindlichem Hydrocephalus	70
4.4	Meningiosis leucämica	71
4.5	Zum Problem der Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungen	73
5.	Zusammenfassung	74
6.	Literatur	75

EINLEITUNG

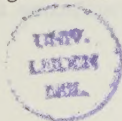
Die Autoradiographie (ARG) dient zum Nachweis der Verteilung von Radioisotopen in Organen und Zellen. Es werden hochsensible Kernspuremulsionen in engen Kontakt mit radioaktiv markierten, biologischen oder anderen Objekten gebracht. Die auf der Emulsion entstehenden, photographisch entwickelten, Schwärzungsabbilder werden als Autoradiogramme bezeichnet.

Die Anfänge der ARG lassen sich bis ins Jahr 1898 zurückverfolgen. Damals konnte Henry BECQUEREL beweisen, daß Uranylsulfat in der Lage war photographische Platten durch 2 Lagen schwarzes Papier hindurch zu schwärzen. Die erste, gezielte Anwendung der Methode erfolgte 1904 durch LONDON. Er stellte das Autoradiogramm eines Frosches her, der Radium-Emanation inhaliert hatte, indem er diesen zusammen mit einer Photoplatte exponierte.

Ab 1940 erfährt die ARG einen starken Aufschwung. BELONGER und LEBLOND entwickeln 1946 die Flüssigemulsionstechnik. PELC führt 1956 die Stripping-Film-Technik in die Autoradiographie ein. Die Dipping-Technik wird 1955 von JOFTES und WARREN eingeführt. 1956 beginnt die Entwicklung der elektronenmikroskopischen Autoradiographie.

Entscheidend trägt die ARG mit ^1_3H -Thymidin zur Abklärung und Verdeutlichung der Zusammenhänge zwischen DNS-Synthese und Funktionstoffwechsel der Zelle bei.

Nach den Veröffentlichungen von JOHNSON et al. (1960), CHIGASAKI (1963), KURY und CARTER (1965), FUKUMA et al. (1969) und HOSHINO et al. (1972), die Patienten mit Hirntumoren intravenös ^1_3H -Thymidin verabreichten bzw. während der Operation lokal ^1_3H -Thymidin in den Tumor injizierten und dann die Anzahl der markierten Zellen bestimmten, erscheint 1972 von KÖLMEL und CHONÉ der erste Bericht, in dem unter dem Gesichtspunkt der Proliferationskinetik auf die Tumorzell Diagnostik im Liquor mit Hilfe der ^1_3H -Thymidin-ARG hingewiesen wird. Durch die in vitro-Inkubation des Zellsubstrates mit ^1_3H -Thymidin konnten wertvolle Aufschlüsse über die Zellumsatzgröße der betreffenden Zellpopulation gewonnen werden.



FUKUI, YAMAKA, YAMASAKI et al. (1975) berichten von sehr hohen Markierungsindices - bei der in-vitro Inkubation von Liquorzellen mit ^3H -Thymidin - in einem Fall von primärem Retikulumzellsarkom des Gehirns mit subarachnoidaler Ausbreitung. Ebenfalls 1975 erscheint eine erste Untersuchung von YAMAKA, FUKUI, OHTA und KITAMURA über das Markierungsverhalten von menschlichen Liquorzellen bei nicht-neoplastischen Erkrankungen.

In den folgenden Jahren erscheinen einige umfangreichere Arbeiten über die Markierung von Liquorzellen bei neoplastischen, entzündlichen und nicht-entzündlichen Erkrankungen des ZNS (OHTA, FUKUI et al. 1977; DOMMASCH et al. 1977, KÜLMEL 1978).

In der vorliegenden Untersuchung wird die ARG im Mikrobereich angewendet. Sie dient dem Nachweis von mit Tritium (^3H) markiertem Thymidin in Zellkernen von Liquorzellen. Tritium findet wegen seines günstigen Auflösungsvermögens Verwendung. Es liegt bei entsprechender Schichtdicke im lichtmikroskopischen Bereich zwischen 0,2 und 0,3 μm .

Die Arbeit soll der Frage nachgehen, welchen Stellenwert der ARG in der Liquorzytologie beizumessen ist. Es soll untersucht werden, welche Zellen markiert werden, ob die Markierungsbereitschaft der einzelnen Zellen unterschiedlich ist, ob es mit Hilfe der ARG möglich ist, eine Tumordiagnose zu stellen und ob sich die ARG als Verlaufskontrolle bei cytostatischer Therapie eignet. Eine Zusammenfassung der Ergebnisse schließt die Arbeit ab.

1. THEORETISCHE BEMERKUNGEN ZUR ARG

In diesem Kapitel wird versucht, eine kurze Darstellung - ohne ins Detail zu gehen bzw. ohne einen Anspruch auf Vollständigkeit zu erheben - der wichtigsten Begriffe, Techniken und Effekte, die bei autoradiographischen Untersuchungen eine Rolle spielen, zu geben.

1.1 Arten ionisierender Strahlen und ihre Anwendung in der ARG

Radioaktive Atomkerne zerfallen unter Freigabe von Energie. Je nach Qualität des Zerfallsprozesses entstehen unterschiedliche Strahlungen: α , β und γ -Strahlung. Für die Praxis der ARG spielen vor allem α - und β -Teilchen eine Rolle. Zwischen beiden bestehen einige wichtige Unterschiede, auf die aber hier nicht eingegangen werden soll.

Von den β -Strahlern hat sich das Tritium (^3_1H) als am praktikabelsten für zytologische und histologische Untersuchungen erwiesen. Es hat eine lange Halbwertszeit (12,26 Jahre) und den Vorteil einer extrem niedrigen Energie (5,7-18 KeV). In einer Photoemulsion wird es in einer Schicht von 1 μm vollständig absorbiert. Das bedeutet exakte Zuordnung zur untersuchten Struktur und hohe Auflösung, denn die Mehrzahl der photographisch entwickelten Silberkörner liegt dem Präparat fast unmittelbar an. Das heißt auch, daß zur Schwärzung nur die oberste, 1 μm dicke Schicht des Präparates beiträgt. Strahlung aus tieferem Bereich unterliegt der β -Selbstabsorption. Optisch scharfe Präparate erhält man also bei extrem dünnen Schnitten bis 1 μm .

1.1.1 Markierung

Unter Markierung versteht man die Substitution bzw. das Kennzeichnen eines oder mehrerer Atome in Molekülen oder anderen chemischen Bausteinen durch radioaktive Isotope. Bei organisch-chemischen Verbindungen besteht die Möglichkeit, entweder Radiokohlenstoff (C_{14}) oder Wasserstoff (^3_1H , Tritium) in das Molekül einzuführen. Wird dabei ein ganz

bestimmtes, hinsichtlich seiner Lage im Molekül bekanntes Atom ersetzt, spricht man von spezifischer Markierung. Sie erfordert meist sehr komplizierte und langwierige Synthesen. Ist dagegen die Lage des Markierungsisotops nicht festgelegt, sondern variiert von Molekül zu Molekül, spricht man von unspezifischer Markierung. Meist erfordert auch sie die Synthese des gewünschten Moleküls. Beim Tritium ist die Markierung ohne eine Neusynthese möglich. Wasserstoffhaltige, organische Verbindungen sind in einer tritiumhaltigen Atmosphäre in der Lage, ihren Wasserstoff gegen das Tritiumisotop auszutauschen.

1.1.2 Emulsion

Autoradiographische Emulsionen bestehen im Unterschied zu photographischen Emulsionen aus einem hohen Anteil an Silberbromid (80-90 % des Emulsionsgewichtes). Der hohe Anteil an Silberbromid erhöht die Emulsionsdichte und damit die Empfindlichkeit, da die 'Stopwirkung' gegenüber emittierten Teilchen größer ist. Die Kristalldurchmesser liegen im allgemeinen zwischen 0,04 und 0,3 μm (AMLACHER 1974). Je kleiner die Kristalle sind, desto genauer ist das Lokalisations- und Auflösungsvermögen; die Empfindlichkeit wird jedoch geringer.

Trägersubstanz der Emulsion ist Gelatine. Die in ihr enthaltenen Schwefelspuren gehen Verbindungen mit den Silberbromidkristallen ein - in den perfekten, unversehrten Kristall werden dadurch Defekte eingebaut -. Diese defekten Kristalle sind die Zentren der Photosensitivität.

Eine weitere Aufgabe der Kristalle ist die Isolation gegeneinander, damit die Entwicklung eines Kristalles nicht die eines benachbarten katalysieren kann.

1.1.3 Einige mit der ARG verbundene Effekte

- a) Background
- b) Fading Effekt
- c) Chemographie

zu a) Mit Background wird der Umstand bezeichnet, daß z.B. bei einem zytologischen Präparat außerhalb des Ausstrichareals Silberkörner zur Darstellung kommen. Bekannte Ursachen dafür sind:

Umgebungsstrahlung: ganz geringer Effekt durch kosmische Strahlung, geringfügige Spuren von 40 K und β -Strahlern, die der Objektträger enthält sowie 14 C in der Gelatine der Emulsion.

Lichteinwirkung: Die Lichtempfindlichkeit der verschiedenen Emulsionen ist unterschiedlich. Alle reagieren jedoch bei Lichteinwirkung mit einer Erhöhung des Backgrounds. Deshalb Verarbeitung der Präparate bei Sicherheitslicht.

Elektrostatische Entladung: Diese kann beim Abziehen der Film-Gelatine vom Objektträger bei geringer Luftfeuchtigkeit zur Bildung des Backgrounds führen (siehe auch Stripping Technik).

Mechanische Druckwirkung: Die Kernspurenemulsionen sind druckempfindlich (Fingerabdrücke!). Der Background erhöht sich auch bei zu schnellem Trocknen.

Entwicklungsprozeß: Mit Zunahme der Entwicklerkonzentration, der Entwicklungsdauer und der Temperatur kommt es zu einem Anstieg des Backgrounds.

Kontaminisation der Emulsion mit Instrumenten aus Kupfer oder nicht rostfreiem Stahl führen zum Anstieg der Hintergrundaktivität.

Aufbewahrungstemperaturen: über $+1^{\circ}\text{C}$, zu hohe Temperaturen bei der Exposition (über $+4^{\circ}\text{C}$) sowie Altern der Emulsion fördern die Entstehung des Backgrounds.

zu b) Fading-Effekt: Während der Exposition kommt es zu einem 'verschwinden der Silberkörner' durch Oxidation des metallischen Silbers. Betroffen sind davon besonders feinkörnige Emulsionen (AMLACHER 1974). Der Fading-Effekt ist temperaturabhängig. Bei Feuchtigkeit, Temperaturanstieg und hohem O_2 -Gehalt im Präparat wird er stärker. Der Fading-Effekt ist irreversibel. Bei normalen Expositionsbedingungen (4°C und Trockenmittel in Form von CaCl_2) tritt er kaum auf.

zu c) Chemographie entsteht dadurch, daß die Photoemulsion mit verschiedenen Geweben/Zellmaterial und Färbungen in Kontakt kommt. Dabei können reaktive Gruppen entstehen (vor allem solche mit Reduktionsvermögen) und die Entstehung eines Latenzbildes durch direkte chemische Reaktion mit den Silberhalogenidkristallen bewirken (positive Chemographie).

1.1.4 Auflösungsvermögen

In der Optik wird als Auflösung der Abstand zweier Punkte verstanden, die man gerade noch getrennt wahrnehmen kann. So eindeutig ist der Begriff des Auflösungsvermögens in der ARG nicht definiert. Er hängt vielmehr von den bestehenden Bedingungen ab. In einem optischen System ergibt eine punktförmige Lichtquelle ein punktförmiges Abbild. Im Autoradiogramm ergibt jedoch eine punktförmige β -Strahlungsquelle kein deckungsgleiches Abbild, da ja die β -Teilchen die Emulsion in verschiedener, schräger Richtung durchqueren (bei jedem Zusammenstoß wird die Richtung verändert). Nur wenige treten senkrecht in die Emulsion ein. Das bedeutet: Eine punktförmige Strahlungsquelle wird in der ARG niemals punktförmig abgebildet.

STEVENS (1950) definiert das Auflösungsvermögen als den Abstand zweier Strahlungsquellen, der es gestattet, beide Quellen im ARG noch als getrennte Bilder wahrzunehmen. Bei Untersuchungen mit radioaktiv markierten, mikroskopisch kleinen Strichrastern, die unterschiedliche Abstände hatten und auf Photoemulsionen abgebildet wurden, fand er dabei Werte von $2,3 \mu\text{m}$ für ^{131}J und ^{35}S .

BLEECKEN (1961) ermittelte methodisch anders vorgehend gleiches Auflösungsvermögen für verschiedene Emulsionen, jedoch unterschiedliches von Strahler zu Strahler.

Autoradiographisches Auflösungsvermögen ist kein absoluter und zu verallgemeinernder Begriff - es unterscheidet sich vom photographischen Auflösungsvermögen. Für die lichtoptische ARG bedeutet es, daß besonders bei homogener Markierung keine exakte Zuordnung der Silberkornbelegung zu bestimmten Strukturen erfolgen kann (AMLACHER 1974).

1.2 Techniken der ARG

Beschrieben werden nur Techniken, die bei mikroskopischen Objekten zur Anwendung kommen.

a) Kontaktmethode (appositions technique): Dabei werden das Objekt und die photographische Schicht nach gemeinsamer Exposition voneinander getrennt weiterbehandelt.

b) Stripping-Film-Verfahren: Präparat und Filmschicht bleiben ständig miteinander in Berührung. Es wird mit fertigen Filmfolien gearbeitet.

c) Methoden, bei denen mit flüssigen Emulsionen gearbeitet wird:

Mounting-Technik: Die zu untersuchenden Gewebsschnitte werden direkt auf eine vorbereitete Emulsion geklebt.

Coating-Technik: Auf die histologischen Schnitte wird die strahlungs-empfindliche Schicht entweder durch Auftropfen einer verdünnten Emulsion und anschließendes Ausstreichen aufgebracht, oder

Dipping-Verfahren: Durch kurzes Eintauchen des Objektträgers in eine entsprechende Emulsion wird die Filmschicht aufgetragen.

Die in dieser Arbeit untersuchten Präparate wurden fast ausschließlich nach dem Dipping-Verfahren hergestellt. Ausführliche Darstellung dieses Verfahrens im Kapitel Methodik (s. S. 13).

1.2.1 Thymidinstoffwechsel und Einbau in die DNS

Die in dieser Arbeit verwendete markierte Substanz war ^3H Thymidin. Die DNS bzw. die Nukleinsäuren lassen sich in Purine, Pyrimidine, einen Pentosezucker (Ribose oder Desoxyribose) und Phosphorsäure spalten.

Die Pyrimidinbase Thymin wird durch die Verknüpfung mit einem Zucker (N-Glykosidbindung) zu einem Nukleosid - dem Thymidin.

Werden die Nukleoside am C_5 Atom der Ribose mit Phosphorsäure verestert, dann entstehen Nukleotide (Ribonukleotide, Desoxyribonukleotide).

Der Einbau des Thymidins in die DNS erfolgt in der DNS Synthesephase (S-Phase, s. S. 11). Neben zellinternen Vorläufern können dabei von

der Zelle auch exogene Purine und Pyrimidine für die Synthese verwendet werden. Die Pyrimidine werden dabei im allgemeinen nur in der Nukleosidform in die DNS eingebaut, Purine auch als freie Basen. Exogenes Thymidin wird nur in die DNS eingebaut. Die RNS enthält anstatt des Thymidin das Uracil. Thymidin ist also - da die Vorstufe Thymin ebenfalls nicht eingebaut wird - für die DNS spezifisch. Mit ^3_1H markiert, zeigt es die Neubildung von DNS an. Da die DNS relativ stabil ist, persistiert die Markierung.

Morphologisch ist die ^3_1H -Thymidinmarkierung dem Kern bzw. einzelnen Chromosomen zugeordnet. Mit Hilfe der elektronenmikroskopischen ARG konnte nachgewiesen werden, daß ^3_1H -Thymidin nicht nur im Kern eingebaut wird, sondern auch im Cytoplasma (z.B. bei *Amoeba proteus*). Ebenso wurde die Existenz einer mitochondrialen DNS und die mitochondriale DNS-Synthese an Tier und Pflanzenzellen nachgewiesen. NASS et al. (1965) und CAMERON (1964) haben gezeigt, daß die DNS-Synthese in den Mitochondrien permanent und unabhängig von der zyklischen Synthese des Zellkerns verläuft. In Kernen profilierender Zellen konnte gezeigt werden, daß die DNS-Synthese im differenzierten Chromatin stattfindet (Euchromatin). Das kondensierte Chromatin (Heterochromatin) ist inaktiv.

1.2.2 Der Zellzyklus

Durch die ^3_1H -Thymidin ARG sind die entscheidenden Untersuchungen zur Bestimmung der Länge der Einzelphasen des Zellzyklus und seiner Gesamtdauer ermöglicht worden. Man unterscheidet G_0 , G_1 , S, G_2 und M-Phase. G steht dabei für Gap = Lücke, da man früher der Ansicht war, daß in diesen Phasen keine Zellfunktionen zu verzeichnen sind. Heute weiß man, daß eine Fülle biochemischer und synthetischer Leistungen in diesen Phasen ablaufen. S für Synthesephase bezieht sich allein auf die DNS-Synthese.

Der G_1 -Phase kann eine G_0 -Phase vorgeschaltet sein.

Sie wird als eine Ruhephase der Zelle aufgefaßt, in der noch keine Vorbereitungen für die G_1 -Phase getroffen werden (z.B. Leberzellen, Lymphozyten vor der Stimulation).

- G₁-Phase:* Intervall ohne Einbau von Thymidin in die Zellkern-DNS. In ihr laufen eine Fülle von enzymatischen Prozessen ab, die vorwiegend der Vorbereitung der S-Phase dienen.
- S-Phase:* 3_1 -Thymidin wird eingebaut, die Menge an DNS verdoppelt sich. Der Einbau erfolgt zuerst im Euchromatin; erst später in der S-Phase in die DNS des Heterochromatins.
- G₂-Phase:* meist konstante Zeit ohne Einbau von 3_1 H-Thymidin; es laufen jedoch enzymatische Prozesse ab, in der spezifische Proteine für die Mitose bereit gestellt werden.
- M-Phase:* Mitose mit Pro-, Meta-, Ana- und Telophase.

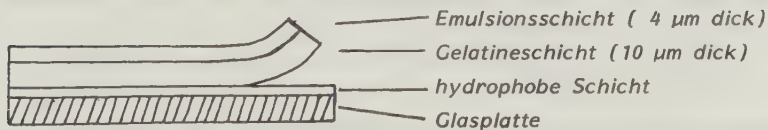
Über die Zeitdauer der einzelnen Phasen des Zellzyklus liegt umfangreiches Material vor. Literatur dazu: LENNARTZ und MAURER (1968); LENNARTZ, SCHUMMELFELDER und MAURER (1966); CLEAVER (1965) u.a.

2. METHODEN

Vorausgeschickt werden muß, daß das Liquormaterial aus zwei verschiedenen zeitlichen und örtlichen Räumen stammt. Ein Teil - der sehr viel kleinere - stammt aus den Jahren 1972 und 1973. Als Autoradiographiemethode wurde damals das Stripping-Verfahren verwendet. Der Liquor stammt von Patienten der Neurologischen-, Strahlen- und Medizinischen Klinik der Universität Heidelberg. Der zweite - größere Teil - stammt aus den Jahren 1974-1978. Dabei kam die Dipping-Methode zur Anwendung. Der Liquor kam in der Hauptsache von Patienten der neurologischen und neurochirurgischen Abteilung des Klinikums Charlottenburg der Freien Universität Berlin, aber auch von anderen Stationen. Ich möchte zunächst die beiden Methoden beschreiben und danach einen Überblick über meine Vorgehensweise geben.

2.1 Stripping-Film-Verfahren

Diese Methode wurde von KODAK/England, von PELC (1956) sowie BERRIMAN et al. (1950) entwickelt und beschrieben. Der Stripping-Film besteht aus einer Nuklearemulsionsschicht, die mit einer Gelatineschicht fest verbunden ist und auf Glasplatten in den Handel kommt:



Schnitt durch einen käuflichen Stripping-Film (nach Fischer-Werner 1971)

Die oben angegebenen Schichten beziehen sich auf den wohl am verbreitetsten Autoradiographiefilm AR 10 von Kodak. Die Silberbromidkristalle in diesem Film sind durchschnittlich 0,2 µm groß. Das Auflösungsvermögen liegt im Mittel bei 2,5 µm, schwankt aber strahlungsabhängig zwischen 1 und 5 µm. Der größte Vorteil dürfte die einheitliche Photoemulsionsdichte sein (nach Werkangaben 5 µm - 0,5 µm), die ein sicheres

quantitatives arbeiten erlaubt.

Da nur wenige Präparate nach diesem Verfahren hergestellt wurden, wird auf eine Beschreibung des Arbeitsganges verzichtet.

2.2 Flüssigemulsionstechnik - Dipping-Verfahren

Nach BELONGER und LEBLOND (1946), die eine Technik beschreiben, bei der eine flüssige Emulsion auf dem zu untersuchenden Präparat dünn ausgestrichen wird, berichteten JOFTES und WARREN (1955) über die Tauchtechnik (Dipping-Technik). Abwandlungen erfuhr diese Technik durch MESSIER und LEBLOND (1957) und durch KOPRIWA und LEBLOND (1963). Die Dipping-Technik ist neben der Stripping-Filmtechnik das derzeit am meisten verwendete Verfahren.

In der lichtmikroskopischen ARG finden hauptsächlich Ilford-Emulsionen, aber auch Eastman Kodak- und Agfa Gevaert-Emulsionen Verwendung. Die Emulsionen unterscheiden sich stark sowohl was die Empfindlichkeit als auch die Schichtdicke bei unverdünnter Emulsion betrifft (siehe dazu Tabelle AMLACHER 1974, S. 25).

2.2.1 Emulsionsdicke

Die Dicke der Emulsionsschicht hängt ab:

- a) vom Grad der Verdünnung
- b) von der Temperatur

Je verdünnter die Emulsion (die Verdünnung muß mit ionenfreiem Wasser erfolgen) und je höher die Temperatur (Temperaturoptimum bei etwa 40° C) desto dünner wird die Emulsionsschicht. Temperaturen über 50° C führen zu hohem Background und zu unregelmäßiger Kristallverteilung beim Trocknen (AMLACHER 1974).

Zur Bestimmung der Emulsionsdicke wird die Reichweite der Partikel von ^3_1H benutzt (siehe auch unter 1.1). Betrachtet man das Präparat mit Ölimmersion und stellt sich heraus, daß zwischen den höchstgelegenen,

d.h. am weitesten von der Markierung entfernt liegenden Silberkörnern und der Schichtoberfläche noch Emulsion liegt, ist ein quantitatives Vorgehen möglich, denn die Schicht ist dick genug. Erreichen die Silberkörner den obersten Rand der Schicht, dann ist diese zu dünn und es können nur qualitative Beobachtungen angestellt werden.

2.2.2 Fehlerquellen

Im Gegensatz zur Stripping-Filmtechnik mit ihren relativ konstanten Faktoren gibt es bei der Arbeit mit flüssigen Emulsionen einen ganzen Komplex technisch bedingter Fehlerquellen. So berichten CARO und TUBERGEN (1962) über unregelmäßiges Verhalten der Silberhalogenidverteilung während des Trocknens einer dünnflüssigen Emulsionsschicht. Raumtemperatur und Feuchtigkeit beeinflussen den Trocknungsprozeß und die Schichtdicke der Emulsion in unkontrollierbarer Weise. Sie empfehlen deshalb, die Emulsion vor dem Aufbringen auf das Präparat auf 23° C abzukühlen und anschließend im warmen, staubfreien Luftstrom zu trocknen. ROGERS (1967) schlägt vor, die Präparate nach dem Eintauchen auf eine eisgekühlte Platte zu legen und so die Emulsion zum Gelieren zu bringen. Erst nach erfolgter Gelierung der Emulsion läßt ROGERS Objektträger und Eisenplatte auf Zimmertemperatur erwärmen und an der Luft trocknen. WALLER (1961) schlägt als vorbeugende Maßnahme gegen den 'Streß'background vor, daß alle zur Verdünnung benutzten wässrigen Lösungen 1% Glyzerin enthalten sollten. LEBLOND et al. (1963) weist darauf hin, daß beim Abfließen der Emulsion vom Objektträger von oben nach unten eine unterschiedlich dicke Emulsionsschicht entsteht, wenn die Raumtemperatur 17° C beträgt. Wurde dagegen bei 28° C und 50-60% relativer Luftfeuchtigkeit getrocknet, entstand eine uniforme Emulsionsschicht mit gleichmäßiger Silberhalogenidverteilung.

Trocknet man Präparate bei 40° C und niedriger Luftfeuchtigkeit, kommt es häufig zu Artefakten: Klumpen und Reihen von Silberkörnern in den Gewebslücken (LEBLOND 1963). JOFTES (1963) beschreibt die gleichen Erscheinungen bei zu schnellem Trocknen der Gelatine.

AMLACHER (1974) findet diese Art von Artefaktbildung bei zu stark verdünnten Emulsionen. Er schlägt vor, die Emulsion gut durchzurühren, durch Gaze zu filtern und bei etwa 50% Luftfeuchtigkeit und 20°C die Präparate an der Luft trocknen zu lassen. Dem entsprach unsere Vorgehensweise.

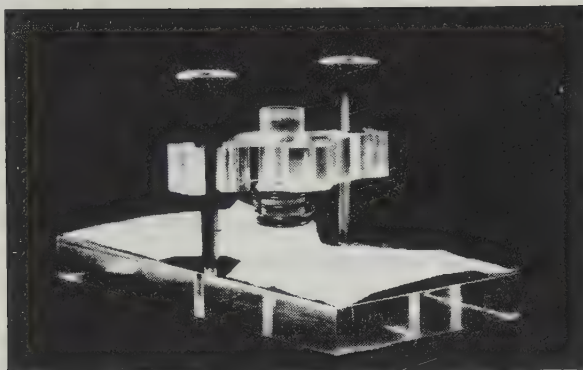
2.3 Beschreibung der Arbeitsgänge

Der von AMLACHER (1974) erhobenen Forderung nach einer eigenen, nur für die ARG eingerichteten Dunkelkammer und einem nur der ARG dienenden Labor konnte bei dieser Untersuchung nur annäherungsweise nachgekommen werden. Im 'Liquor'-Labor wurden neben der ARG auch Routineuntersuchungen - die Liquorzytologie betreffend - durchgeführt. Die Markierung, Exposition und Entwicklung wurde in einem hauptsächlich für die ARG eingerichteten Photolabor des Klinikums Steglitz durchgeführt.

2.3.1 Zellanreicherung

Um die empfindlichen Liquorzellen (KÖLMEL 1978) vor Schaden zu bewahren, legten wir großen Wert darauf, daß der nach Lumbalpunktion gewonnene Liquor innerhalb von 30 Minuten ins Labor gebracht wurde. Von jedem Liquorpunktat wurden ein bis zwei ARGen und mindestens ein weiteres, in der Regel nach PAPPENHEIM gefärbtes Präparat angefertigt. Um eine möglichst hohe Zellkonzentration zu erreichen, wurden einfache Zellsedimente mit Hilfe der spontanen Sedimentation in der modifizierten SAYKSCHEN Kammer angefertigt (KÖLMEL 1977).

Bei den frühen ARGen, die mittels der Stripping-Methode hergestellt wurden, wurde die Zellanreicherung mit der Zytozentrifuge durchgeführt. Die dabei auftretende Beanspruchung der Zellen führte aber häufig zu ihrer Beschädigung und Deformierung. Deshalb wurde diese



*Modifizierte
Sayksche Kammer*

Methode verlassen und beim Dipping-Verfahren kam nur noch die spontane Sedimentation in der modifizierten Sayk-Kammer zur Anwendung. Die Normalpräparate wurden nach einer Sedimentationszeit von 40-60 Minuten getrocknet und dann nach Pappenheim, selten nach Papanicolaou gefärbt.

2.3.2 Markierung

Für die ARG nach dem Dipping-Verfahren wurden 1-2 ml Liquor mit 1-2 μ Ci Tritium markiertem Thymidin (spez. Aktivität 5,6 Ci/m Mol) in vitro inkubiert. D.h. der Liquor wurde zusammen mit der radioaktiven Substanz in eine modifizierte Sayk'sche Kammer gegeben. Die Sedimentationszeit von 40-60 Minuten entsprach der Inkubationszeit. Die Inkubation erfolgte bei 37° C.

Zum Zellsubstrat wurden keine speziellen Nährzusätze gegeben. Nach Abschluß des Sedimentiervorganges wurden die Objektträger vorsichtig aus der Sedimentierkammer gelöst und nach Lufttrocknung (1-2 Stunden) mit wasserfreiem Methanol fixiert. Jeweils 20-30 so behandelte Präparate wurden dann in einem lichtdichten Präparatekasten gesammelt.

2.3.3 Emulsion

Zum Auftragen der lichtempfindlichen Emulsionsschicht wurde nach anfänglich unbefriedigenden Versuchen ein Photolaborraum des Klinikums Steglitz genutzt. In diesem Raum war die Möglichkeit der Feuchtigkeits- und Temperaturregulation gegeben. Kühlschrank, Schutzlicht, Heizplatte, elektrisches Rührwerk und alle sonst benötigten Utensilien waren vorhanden.

Zunächst wurde die aus dem Kühlschrank genommene Emulsion auf Zimmertemperatur (18-20° C) erwärmt. Die relative Luftfeuchtigkeit lag zwischen 40 und 50%. Verwendet wurde Kodak nuclear track emulsion Typ NTB 3 Best. Nr. 1654441. Die Emulsion wurde in ein Becherglas gegeben und in ein 40-43° C warmes Wasserbad gestellt. Um eine für unsere Zwecke richtige Schichtdicke zu erreichen (etwa 1 μm), wurde die Emulsion mit zweimal destilliertem Wasser (ionenfrei) im Verhältnis 1:1 verdünnt. Die verdünnte Emulsion wurde mit dem Rührwerk etwa 2 Minuten gerührt. Dann wurde sie - um eine völlig luftfreie Emulsion zu erhalten - 5 Minuten stehen gelassen und danach durch Lohmann Verbandmull Nr. 120057 in ein vorgewärmtes Becherglas filitert. Mit einem sauberen, leeren Objektträger wurde dann geprüft, ob sich die Emulsion sauber und luftblasenfrei verteilt. Während des ganzen Arbeitsvorganges brannte das Rotlicht Wratten Nr. 2.

Danach wurden die Objektträger einzeln in die Emulsion getaucht, langsam herausgezogen und in einem Ständer, der mit Fließpapier ausgelegt war, senkrecht aufgestellt. Wegen der sehr schlechten Ergebnisse (hoher Background) wurden nur die ersten Präparate mit dem Föhn getrocknet. Viel bessere Ergebnisse erbrachte die Trocknung an der Luft (1 Stunde).

2.3.4 Lagerung

Die Präparate wurden in einen lichtdichten Präparatekasten gestellt und im dunklen Kühlschrank bei 5° C gelagert. In die Präparatekästen wurde in Mull verpacktes CaCl_2 gegeben, um die Feuchtigkeit möglichst niedrig zu halten. Diejenigen Präparate, die nur einfach vorhanden waren, wurden nach einer Expositionszeit von 12 Tagen, die doppelt vorhandenen jeweils nach 12 und 24 Tagen entwickelt. Jeder Präparatebox wurde ein leeres, mit Emulsion beschichtetes Kontrollpräparat zur Background-Nullwertkontrolle beigegeben. Pilotpräparate zur Probeentwicklung wurden nicht hineingegeben, da bei Untersuchungen mit ^3H -Thymidin ausreichende Erfahrungen und Angaben über die Expositionszeit vorliegen.

2.3.5 Entwicklung und Fixierung

Nach der Expositionszeit von 12 bzw. 24 Tagen wurden die Präparate mit dem Kodak D 19 Developer Powder (1 UK Gallon) entwickelt. Je nach Anzahl der Präparate wurden 1-2 l Entwickler angesetzt. Die Präparate wurden darin unter ständigem hin- und herbewegen 4 Minuten lang entwickelt. Diese Zeitdauer war zuvor experimentell bestimmt worden. Dann kamen sie ins Unterbrecherbad (1% Essigsäure) und wurden danach kurz mit Aqua dest. abgespült.

Fixiert wurde mit dem handelsüblichen Fixiersalz von Kodak, das sich vor allem durch seinen Anteil an Härtersubstanz bewährt hat. Dieser Härter, Kaliumalaun, festigt die Emulsion und schützt sie vor der abschließenden, 30-minütigen Wässerung zur Entfernung des überschüssigen Na-Thiosulfats. Die Fixierungsdauer bleibt ohne Einfluß auf die Silberkornzahl. Nach dem Fixieren wurden die Präparate luftgetrocknet (24 Stunden) und anschließend nach Giemsa gefärbt.

2.3.6 Auswertung (allgemein)

Die so angefertigten und getrockneten Präparate wurden eingedeckt (Diadex) und dann lichtmikroskopisch ausgewertet (Mikroskop: Leitz Orthoplan mit Mikrophotoeinrichtung).

Zunächst wurden die Präparate mit der Übersichtsvergrößerung, dann mit dem Ölimmersionsobjektiv in 400- und 1000-facher Vergrößerung betrachtet. Die autoradiographischen Präparate wurden nach der Anzahl der markierten Zellen bezogen auf alle kernhaltigen Zellen ausgezählt (= Markierungsindex = MI). Waren die Präparate sehr zellhaltig, wurden 3.000 Zellen ausgezählt. Weiterhin wurde die Silberkornzahl/Zellkern und die Zellart der jeweils markierten Zelle berücksichtigt. Letzteres war bei Präparaten von Patienten, die cytostatisch behandelt wurden, häufig mit großen Schwierigkeiten verbunden.

Zur Zelldifferenzierung wurden die nach PAPPENHEIM gefärbten Sedimente herangezogen. Die Zuordnung der Zellen erfolgte in enger Anlehnung an die Differenzierungsbeispiele im Atlas of Cerebrospinal Fluid Cells von KÖLMEL (1977) und von OEHMICHEN (1976). Unterteilt wurde nach polymorphkernigen Granulocyten, kleinen/großen Lymphozyten (transformierte Lymphozyten), Monozyten/Makrophagen und Tumorzellen. Zur Veranschaulichung und Dokumentation wurden von einigen Präparaten Schwarzweiß-Photos angefertigt.

3. DARSTELLUNG UND AUSWERTUNG DER UNTERSUCHUNGSBEFUNDE

Ausgewertet wurden 155 Präparate von 61 Patienten. 62 Präparate sind Doppelpräparate, das heißt sie entstammen derselben Liquorprobe; sie unterscheiden sich lediglich in der Expositionszeit: 12 und 24 Tage. Die Präparate wurden zwischen 1972 und 1978 angefertigt. Die größte Teil stammt aus den Jahren 1977 und 1978. In der Hauptsache liegen Präparate von Tumorpatienten vor.

Die Präparate wurden nach der klinischen Diagnose in Gruppen eingeteilt:

- Autochthone Tumoren des Gehirns	30	Patienten mit	69	Präparaten
- Hirn- und Meningealmetastasen	9	"	"	32 "
- Nicht-neoplastische Erkrankungen (entzündliche und nicht-entzündliche Erkrankungen des ZNS, Liquor bei kindlichem Hydro- zephalus)	15	"	"	28 "
- Meningiosis leucämica	7	"	"	26 "

Die Ergebnisse der einzelnen Gruppen werden in einem Schema dargestellt, das die folgenden Parameter berücksichtigt:

- Geschlecht
- Alter
- Klinische Diagnose
- Untersuchungstag
- Zellzahl
- Expositionszeit
- Differentialzellbild (dabei bedeuten: a= lymphozytäre Zellen
b= monozytäre Zellen
c= neutrophile Granulocyten
Tm= Tumorzellen)
- Mitoseindex (= Mit.-Index)
- Gesamtmarkierungsindex (=MI_{total})
- Differential-Markierungsindex (= MI_a, MI_b, MI_c, MI_{Tm})

Der Gesamtmarkierungsindex (= MI_{total}) sagt aus, wieviel Prozent der Zellen eines Präparates markiert sind.

Der Differential-Markierungsindex (MI_a, MI_b, usw.) drückt aus, wieviel Zellen der jeweiligen Zellgattung markiert sind. So bedeutet MI_a = 1, daß 1% der lymphozytären Zellen markiert sind.

Tabelle 1:

Autochthone Hirntumoren

Patient, geb.	Klin.Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	a	b	c	Tm	Mitose Index in %	MI _{total} in %	MI _a in %	MI _b in %	MI _c in %	MI _{Tm} in %	Präparat Nr.
I	1963 Medulloblastom Op. 7.7.76	14. 7.76	3000/3	12	8	17	75	-	1	0,05	0,625	-	-	-	1
		14. 7.76	3000/3	24	8	17	75	-	1	0,1	1,25	-	-	-	2
		15. 7.76	1600/3	12	29	24	47	-	1	0,2	0,46	0,28	-	-	3
		15. 7.76	1600/3	24	29	24	47	-	1	0,2	0,69	-	-	-	4
II	1936 Medulloblastom Op. 21.9.76	22. 6.76	10/3	12	80	20	-	-	1	0	-	-	-	-	5
		22. 6.76	10/3	24	80	20	-	-	1	0	-	-	-	-	6
		1.10.76	314/3	12	64	19	9	-	1	1,0	1,56	-	-	-	7
		1.10.76	314/3	24	64	19	9	-	1	1,0	1,56	-	-	-	8
III	1971 Medulloblastom Op. 26.6.76	30. 6.76	1000/3	24	18	10	72	-	1	0,2	0,56	1,0	-	-	9
		2. 8.76	240/3	12	24	21	55	-	1	0	-	-	-	-	10
		2. 8.76	240/3	24	24	21	55	-	1	0,2	0,42	0,48	-	-	11
					16	11	73	-	1	0,3	1,25	0,91	-	-	13
IV	1952 Medulloblastom Op. 10.6.76	19. 5.76	35/3	24	nicht differenzierbar; Tm-verd. Zellen; keine Markierung										12
		15. 6.77	1380/3	12	16	11	73	-	1	0,3	1,25	0,91	-	-	13
V	Medulloblastom Op. 3.7.77	8. 7.77	485/3	24	42	40	12	6	1	0,8	0,95	1,0	-	-	14
		11. 7.77	200/3	12	50	16	25	9	1	0,75	1,49	-	-	-	15
VI	1927 Astrozytom III-IV Op. 30.8.76	13. 9.76	800/3	12	8	24	68	-	1	0,5	5,2	0,38	-	-	16
		14. 9.76	810/3	12	10	15	75	-	1	0,2	2,0	-	-	-	17
VII	1971 V.a.Astrozytom Op. 2.6.77	9. 6.76	240/3	12	45	35	20	-	1	0	-	-	-	-	18
VIII	1930 Astrozytom	13.10.76	51/3	24	25	7	68	-	1	0,2	0,8	-	-	-	19
		15.10.76	120/3	12	17	6	77	-	1	0,17	1,0	-	-	-	20
		15.10.76	120/3	24	17	6	77	-	1	0,2	1,17	-	-	-	21
		4. 5.77	4/3	12	76	24	0	-	1	0	-	-	-	-	22

Patient, geb.	Klin. Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	a	b	c	Mitose Index	MI _{total} in %	MI _a in %	MI _b in %	MI _c in %	MI _{Tm} in %	Präparat Nr.
IX	Astrozytom III Op. 12.10.72	12.10.72	64/3	12	56	44	-	-	1	0,2	0,36	-	-	23
X	Astrozytom III-IV und Pseudomonasinf. Op. 30.8.74	15.10.74 16.10.74 31.10.74 18.11.74	690/3 640/3 32/3 1380/3	12 12 12 12	26 nicht 9 9	14 differenzierbar 1 1	60 - 90 90 ₂	- 1 - 1	1 2,8 4,6 0,1	0,7 nicht nicht 0,1	1,86 differenzierbar differenzierbar differenzierbar	1,45 - - -	-	24 25 26 27
XI	Glioblastom Op. 23.1.76	30.1.76 30.1.76 6.2.76	3280/3 3280/3 1024/3	12 24 12	8 8 14	9 9 9	83 83 77	- - 1	1 0,4 0	0,3 0,4 0	2,5 3,75 -	1,11 1,11 -	-	28 29 30
XII	Glioblastom Op. 25.2.76	24.3.76	275/3	12	56	14	30	-	0	0,2	0,351	-	-	31
XIII	Glioblastom Op. 22.6.76	29.6.76 1.7.76 8.7.76 8.7.76 15.7.76 15.7.76	10240/3 2920/3 4380/3 4380/3 341/3 341/3	24 12 12 24 24 12	64 40 38 38 65 65	12 6 10 10 12 12	24 54 52 52 33 33	- - - - - 1	1 1 1 1 1 1	0,2 0,03 0,4 0,4 0,8 0,8	0,31 0,08 0,79 0,66 1,25 1,25	- - 1,0 - - -	-	32 33 34 35 36 37
XIV	Glioblastom Bakterielle Inf.	7.2.77 7.2.77	30700/3 30700/3	24 12	1 5	2 -	96 95	- -	1 1	0 0	- -	- -	-	38 39
XV	Akutikus- neurinom	29.6.76 29.6.76 9.7.76 9.7.76	1280/3 1280/3 72/3 72/3	12 24 12 24	18 18 78 78	4 4 20 20	78 78 2 2	- - - -	1 1 1 1	0,1 0,1 0,1 0,2	0,39 0,54 - -	0,83 - 0,5 1,0	-	40 41 42 43
XVI	Akutikus- neurinom	24.8.76 27.8.76 27.8.76	2148/3 1632/3 1632/3	12 24 12	18 21 21	78 70 70	4 9 9	- - -	1 1 1	0,5 0,4 0,15	2,78 1,43 0,71	- 0,14 -	-	44 45 46

Patient, geb. Klin.Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	a	b	c	Tm	Mitose Index in %	MI _{total} in %	MI _a in %	MI _b in %	MI _c in %	MI _{Tm} in %	Präparat Nr.
XVII 1917 Akustikus- neurinom	16. 5.77	95/3	12	9	9	82	-	1	0	-	-	-	-	47
XVIII 1962 Spongioblastom Op. 17.8.76	23. 12.75 14. 1.76	98/3 14/3	24 24	39 60	64 38	4 2	-	1	0,4 1,25	0,52 1,12	0,3 1,75	-	-	48 49
XIV 1970 Spongioblastom Op. 17.8.76	24. 8.76 26. 8.76 26. 8.76 27. 8.76 6. 9.76 13. 9.76 13. 9.76	2450/3 8960/3 8950/3 4000/3 340/3 720/3 720/3	12 12 24 12 12 12 24	18 16 16 19 16 68 68	8 7 7 11 10 22 22	74 77 77 70 74 10 10	- - - - - - -	1 1 1 1 1 1 1	0 0 0 0,2 0,2 0,3 0,6	- - - 0,789 1,0 0,44 0,44	- - - 0,454 0,45 - 1,36	- - - - - - -	- - - - - - -	50 51 52 53 54 55 56
XX 1966 Spongioblastom Op. 23.8.76	10. 9.76	195/3	12	75	24	1	-	1	1,25	1,4	0,83	-	-	57
XXI 1929 Meningiom	9. 11.76 9. 11.76	280/3 280/3	12 24	12 12	9 9	79 79	- -	1 1	0,2 0,4	- 1,66	2,22 2,22	- -	- -	58 59
XXII 1901 Meningiom Op. 13.4.77	2. 5.77	38/3	12	78	22	-	-	1	1,0	1,28	-	-	-	60
XXIII 1922 Meningiom Op. 14.6.77	22. 6.77 22. 6.77	290/3 290/3	12 24	69 69	10 10	21 21	- -	1 1	0,3 0,3	0,29 0,29	1,0 1,0	- -	- -	61 62
XXIV 1935 Ependymom, malignes Op. 24.6.76	14. 7.76	1490/3	12	16	8	76	-	1	0,05	0,31	-	-	-	63
XXV 1952 Ependymom Op. 1970, 1972	11. 9.72	63/3	12	8	2	-	90	1	0,2	-	-	-	0,22	64

Patient, geb.	Klin. Diagnose	Tag der Untersuchung	Zellzahl	Expositionszeit in Tagen	Differentialzellbild			Mitose Index	MI _{total}	MI _a	MI _b	MI _c	MI _{Tm}	Präparate Nr.
					a	b	c	Tm	in %	in %	in %	in %	in %	
XXVI 1960	Optikusgliom Op. Sommer 1975	28. 3. 77	42/3	12	68	32	-	-	0	-	-	-	-	65
XXVII 1934	Caudaprozeß, maligner	30. 12. 74	1024/3	12	6	8	13	73	2,0	-	-	-	2,7	66
XXVIII 1907	Plexus-Ca	13. 10. 72	?	12	-	-	-	100	2	5,5	-	-	5,5	67
XXIX 1913	Hirn-Tm, unklare Dignität; inoper.	16. 5. 77	22/3	12	39	35	26	-	1	0	-	-	-	68
XXX 1950	Hirn-Tm, unklare Dignität; inoper.	8. 6. 77	74/3	12	70	25	5	-	1	2,85	nicht differenzierbar			69

Tabelle 2:

Metastasierende Tumoren (Hirn- und Meningealmetastasen)

Patient, geb.	Klin.Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	a	b	c	Tm	Mitose Index in %	MI _{total} in %	MI _a in %	MI _b in %	MI _c in %	MI _{Tm} in %	Präparate Nr.
XXXI	Magen-Ca	1.10.71 10.10.71		12 24	75 68	10 10	-	15 22	3 2	4,4 4,1	3,2 2,8	4,0 -	-	10,6 10,0	70 71
XXXII	1915 Plattenepithel-Ca, chron.Meningitis	6. 2.75 13. 2.75 21. 2.75	770/3 1480/3 900/3	24 24 24	17 14 12	12 17 26	67 67 65	4 2? 1	1 1 1	1,0 0,4 0	4,0 2,86 -	2,78 -	-	-	72 73 74
XXXIII	Bronchial-Ca	22.12.75	28/3	12	65	35	-	-	1	0	-	-	-	-	75
XXXIV	1915 Harnblasen-Ca, Lymph.carcinoma- tosa	17. 3.77	16/3	12	65	35	-	-	1	0,4	0,62	-	-	-	76
XXXV	1930 Corpus-Ca, Wirbelmetas.	28. 3.77 1. 4.77 7. 4.77	116/3 155/3 174/3	12 12 12	84 84 89	14 13 6	2 3 5	-	1 1 1	0,3 0,6 0,4	0,357 0,595 0,45	- 0,77 -	-	-	77 78 79
XXXVI	1926 Melanom, Meningiosis carcinomatosa	9. 3.77 14. 3.77 17. 3.77 23. 3.77 29. 3.77 6. 4.77 21. 4.77 13. 6.77	360/3 104/3 34/3 52/3 31/3 16/3 6/3 20/3	12 12 12 12 12 12 12 12	15 24 54 79 59 63 52 57	1 2 3 11 34 30 24 34	- - - - - 2 24 8	84 74 43 10 7 5 - 1	3 3 3 1 1 1 1 1	14,4 14,8 7,8 1,0 0 0 0 0	- - - - - - - -	- - - - - - - -	-	17,1 20,0 18,1 10,0 - - - -	80 81 82 83 84 85 86 87

Patient, geb. Klin. Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	a	b	c	Tm	Mitose Index in %	MI _{total} in %	MI _a in %	MI _b in %	MI _c in %	MI _{Tm} in %	Präparate Nr.
XXXVII 1904 Melanom, malignes	21. 2.77	16/3	12	88	12	-	-	1	1,0	1,21	-	-	-	88
	21. 2.77	16/3	24	88	12	-	-	1	0	-	-	-	-	89
XXXVIII 1957 Lymphosarkom	18. 5.76	9/3	12	70	30	-	-	1	7	7,14	6,66	-	-	90
	9. 6.76	695/3	12	1	2	-	97	8	12,8	-	-	-	13,2	91
	9. 6.76	659/3	24	1	2	-	97	8	11,2	-	-	-	11,5	92
	10. 6.76	772/3	12	1	1	-	98	10	17,5	-	-	-	17,9	93
	10. 6.76	772/3	24	1	1	-	98	10	15,0	-	-	-	15,3	94
	14. 6.76	57/3	12	40	47	-	13	6	1,0	-	-	-	7,9	95
	14. 6.76	57/3	24	40	47	-	13	6	0	-	-	-	-	96
	18. 6.76	60/3	12	63	33	-	4	2	0	-	-	-	-	97
	29. 6.76	9/3	12	98	2	-	-	1	0	-	-	-	-	98
	15. 7.76	9/3	12	74	26	-	-	1	0	-	-	-	-	99
XXXIX 1929 Lymphosarkom	25. 5.72	2000/3	12	5	-	-	95	3	10,0	-	-	-	-	100
	30. 5.72	10/3	12	63	37	-	-	-	0	-	-	-	-	101

Tabelle 3:

Nicht-neoplastische Erkrankungen
Entzündliche Erkrankungen

Patient	geb. Klin. Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	Differentialzellbild			Mitose Index	MI _{total}			MI _a			MI _b			MI _c			MI _{Tm}			Präparate Nr.
					a	b	c	Tm	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	
XL	1916 Meningitis, Meningokokken- inf.	20. 5. 76	100000/3	12	2	14	84	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	102
		20. 5. 76	100000/3	24	2	14	84	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	103
XLI	Enzephalitis	26. 5. 76	564/3	12	54	12	34	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	104
		26. 5. 76	564/3	24	54	12	34	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	105
XLII	1966 Panenzephalitis, subakute	24. 10. 75	27/3	12	91	9	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	106
		24. 10. 75	27/3	24	91	9	-	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	107
XLIII	1919 Lymphozytäre Meningoenzepha- litis	14. 7. 76	229/3	12	70	29	1	-	1	0,1	-	0,345	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	108
		14. 7. 76	229/3	24	70	29	1	-	1	0,1	0,143	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	109
XLIV	1908 Meningitis, Pneumokokken	22. 3. 76	9380/3	24	3	20	77 (6)	-	1	0,133	1,11	0,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	110
XLV	1959 Meningoenzepha- litis	19. 2. 76	538/3	24	43	31	26	-	1	0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	111
XLVI	1954 Lymphozytäre Meningoenzepha- litis	9. 3. 77	286/3	12	88	8	4	-	1	5,0	4,54	12,5	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	112

Tabelle 4:

Nicht-entzündliche Erkrankungen

Patient, geb.	Klin. Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	Differentialzellbild			Mitose Index	MI _{total} in %	MI _a in %	MI _b in %	MI _c in %	MI _{Tm} in %	Präparate Nr.
XLVII	1975 Subarachnoidal- cyste	15.11.76 15.11.76	16/3 16/3	12 24	71 71	25 25	4 4	- -	1 1	0 0	- -	- -	- -	113 114
XLVIII	1946 SHT II	30. 1.76	688/3	24	2	10	88	-	1	0	-	-	-	115
XLIX	1946 SHT I-II	19. 5.76 21. 5.76 21. 5.76	64/3 4800/3 4800/3	24 12 24	36 42 42	52 43 43	12 15 15	- - -	1 1 1	0 0,05 0,066	- 0,12 0,08	- - 0,08	- - 0,08	116 117 118
L	1905 Diab. Poly- neuropathie	27. 4.77	20/3	12	28	33	39	-	3	0	-	-	-	119
LI	1958 Porencephalie, bakterielle Meningitis	9. 6.77 9. 6.77 10. 6.77 10. 6.77	1600/3 1600/3 1560/3 1560/3	12 24 12 24	10 10 15 15	32 32 17 17	58 58 68 68	- - - -	1 1 1 1	0,25 0,25 0,25 0,3	2,0 2,5 1,33 2,0	0,156 - 0,294 -	- - - -	120 121 122 123

Tabelle 5:

Liquor bei frühkindlichem Hydrozephalus

Patient, geb.	Klin. Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	Differentialzellbild			Mitose Index	MI _{total}			MI _a			MI _b			MI _c			MI _{Tm}			Präparate Nr.
					a	b	c	Tm	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	in %	
LII	1974 Hydrozephalus int.et ext.	18.11.76	421/3	12	91	9	-	-	1	2,2	-	1,98	4,44	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	124
LIII	1969 Hydrozephalus; Tumورverdacht	9. 6.76	80/3	12	37	45	7	11	2	2,0	-	3,47	1,24	-	-	0,16	-	-	-	-	-	-	-	125
		9. 6.76	80/3	24	37	45	7	11	2	2,0	-	2,72	1,11	-	-	0,6	-	-	-	-	-	-	-	126
		13. 6.76	200/3	12	45	54	1	-	2	1,8	-	3,24	0,63	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	127
LIV	1976 Hydrozephalus int.et ext. Colimeningo- encephalitis	31. 1.77	195/3	12	56	42	2	-	1	3,6	-	3,57	3,8	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	128
		31. 1.77	195/3	24	56	42	2	-	1	4,4	-	4,28	4,57	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	129

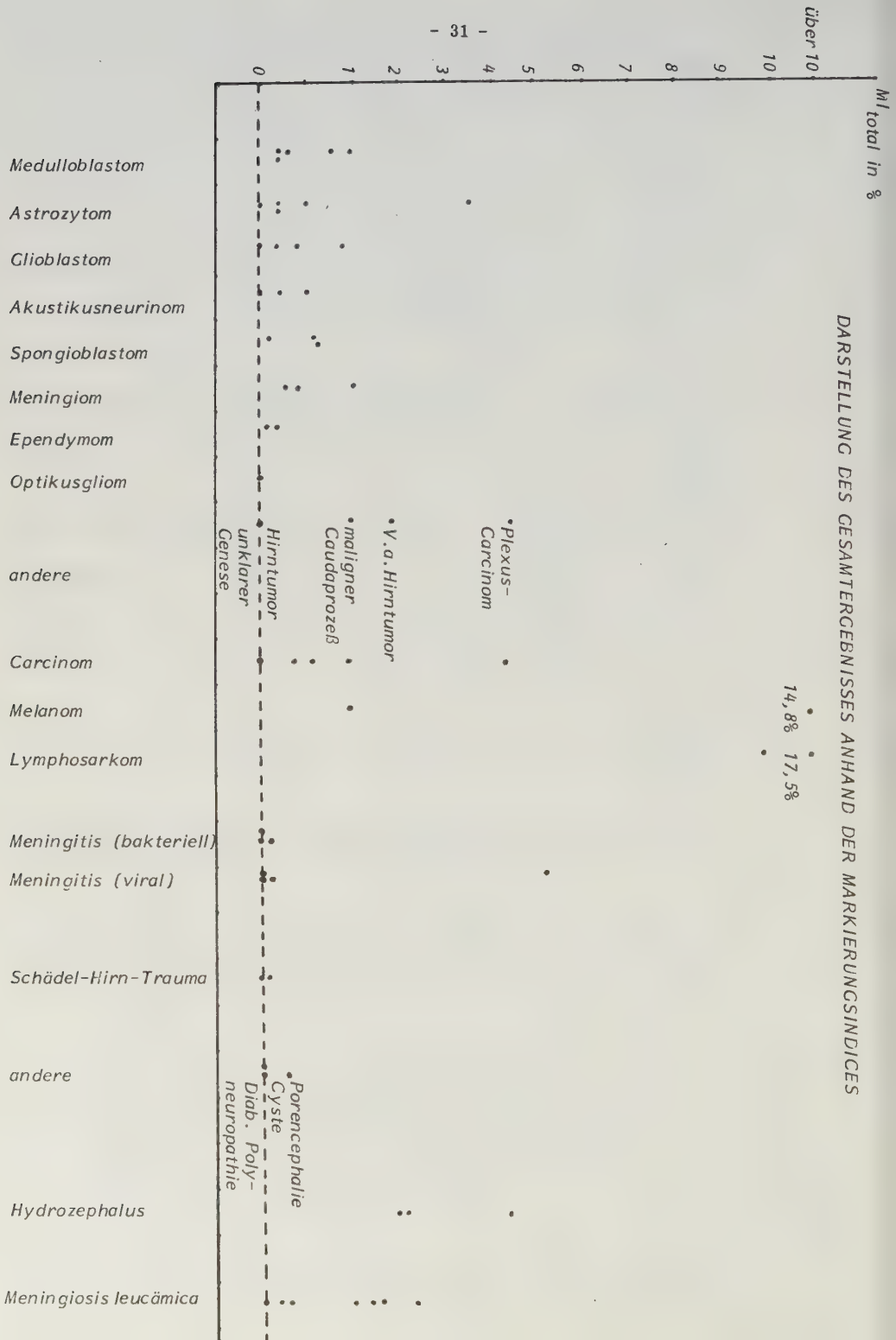
Tabelle 6:

Meningiostis leucämica

- 30 -

Patient, geb.	Klin. Diagnose	Tag der Unter- suchung	Zellzahl	Expositions- zeit in Tagen	Differentialzellbild				Mitose Index	MI_{total}	MI_a	MI_b	MI_c	MI_{Tm}	Präparate Nr.
					a	b	c	Tm	in %	in %	in %	in %	in %		
LV 1939	Lymphoblasten- leukämie	10. 11. 71	45/3	12	60	20	-	20	1	2,4	1,8	0,5	-	-	130
		2. 2. 72	78/3	12	52	23	-	25	1	1,8	1,8	-	-	3,4	131
		6. 2. 72	16/3	12	stark veränd. Zell-				1	-	-	-	-	-	132
		5. 5. 72	23/3	12	bild, so daß end-				1	-	-	-	-	-	133
		12. 5. 72	35/3	12	gültige Differen-				1	-	-	-	-	-	134
LVI 1913	Chr. lymphat. Leukämie	14. 5. 72	30/3	12	zierung nicht mögl.				1	-	-	-	-	-	135
		28. 10. 76	60/3	12	90	10	-	-	1	0	-	-	-	-	136
		28. 10. 76	60/3	24	90	10	-	-	1	0,2	0,22	-	-	-	137
LVII 1903	Monocyten- leukämie	10. 5. 73	1120/3	12	12	3	-	85	1	1,35	3,03	-	-	1,16	138
		14. 5. 73	824/3	12	8	2	-	90	1	8,0	-	-	-	8,9	139
		18. 5. 73	16/3	12	50	30	-	20	1	1,0	1	-	-	2,5	140
LVIII 1926	Myeloblasten- leukämie	18. 9. 72	56/3	12	27	27	6	40	1	1,0	-	-	-	2,5	141
		21. 9. 72	30/3		40	30	-	30	1	1,0	-	-	-	3,3	142
LIX 1935	Myeloblasten- leukämie	25. 2. 72	46/3	12	4	10	-	86	1	1,6	-	-	-	1,86	143
		27. 2. 72	32/3	12	7	6	-	87	1	2,0	-	-	-	2,3	144
		1. 3. 72	449/3	12	15	5	-	80	1	2,4	-	-	-	3,0	145
LX 1928	Leukämie, unreife zellige	23. 6. 72	103/3	12	10	-	-	90	1	0,3	-	-	-	0,33	146
		27. 6. 72	9/3	12	10	4	-	86	1	0	-	-	-	-	147
		17. 7. 72	240/3	12	3	-	-	97	1	0	-	-	-	-	148
LXI 1928	Leukämie, unreife zellige	6. 6. 72	832/3	12	5	-	-	95	2	1,0	-	-	-	1,06	149
		21. 6. 72	1950/3	12	-	5	-	95	2	0,6	-	-	-	0,63	150
		23. 6. 72	600/3	12	-	10	10	80	2	0,4	-	-	-	0,5	151
		26. 6. 72	275/3	12	20	20	10	50	1	0,2	-	-	-	0,4	152
		29. 6. 72	230/3	12	30	20	10	40	1	0	-	-	-	-	153
		3. 7. 72	90/3	12	30	20	10	40	1	0	-	-	-	-	154
		20. 7. 72	45/3	12	fast alles Tmzellen				1	0	-	-	-	-	155

DARSTELLUNG DES GESAMTERGEBNISSES ANHAND DER MARKIERUNGSINDICES



3.1 Autochthone Tumoren

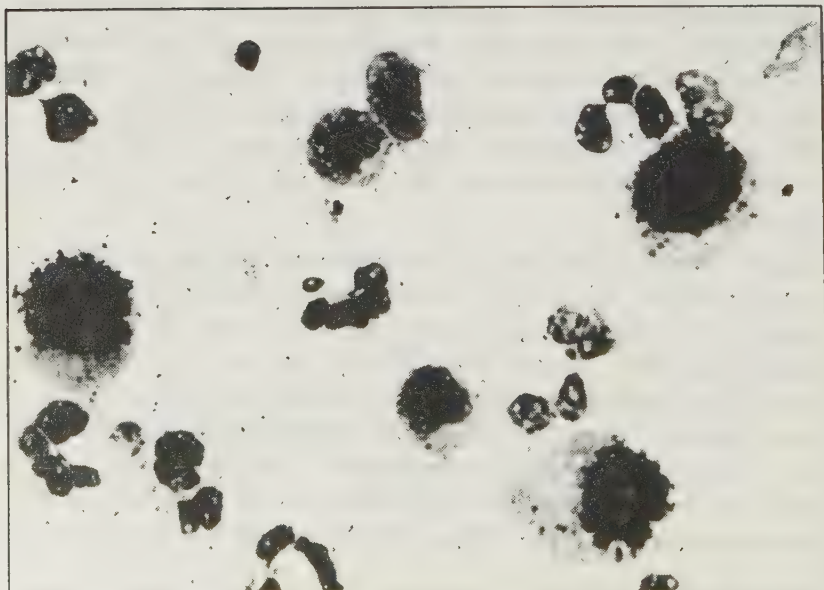
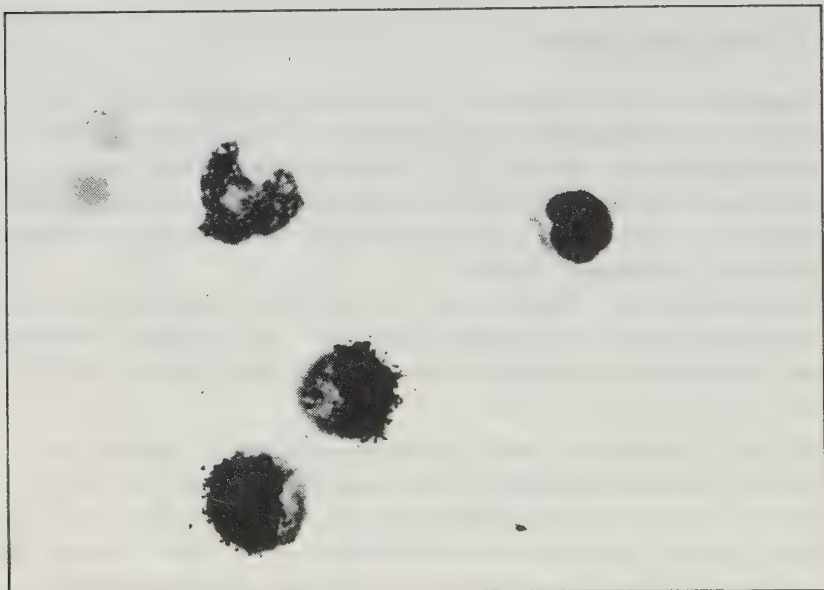
Ausgewertet wurden 69 Präparate von 30 Patienten. Dabei hatten 5 Patienten ein Medulloblastom, 5 ein Astrozytom, 4 ein Glioblastom, 2 ein Akustikusneurinom, einer ein V.a. Akustikusneurinom, 3 ein Meningiom, 3 ein Spongioblastom, 2 ein malignes Ependyom, einer ein Optikusgliom, einer ein Plexuscarcinom, einer einen malignen Caudaprozeß und 2 einen Hirntumor unbekannter Dignität.

Der größte Teil der Präparate (46) wurde postoperativ angefertigt (die Operationen waren fast ausschließlich subtotal). Die Zeitdauer zwischen der Operation und der Liquorentnahme betrug wenige Stunden bis fast zwei Jahre nach der Operation.

Von den 5 Patienten mit einem Medulloblastom liegen 15 Präparate vor. 12 davon wurden postoperativ, 3 praeoperativ angefertigt. Der Zeitraum zwischen Operation und Präparatanfertigung betrug 4-9 Tage. Die z.T. stark erhöhten Zellzahlen und die Zelldifferenzierung (hoher Granulozytenanteil, Monozyten im Normbereich, niedriger Lymphozytenanteil) sprechen für eine postoperative, unspezifische Reizpleozytose. Die Markierungsindices lagen zwischen 0 und 1%, wobei die Lymphozyten am stärksten markiert waren (bis 1,56%). Monozytäre Zellen waren in 5 Fällen markiert. Tumorzellen wiesen keine Markierung auf. Der Mitoseindex lag maximal bei einem Prozent. Die Anzahl der Silberkörner pro Zellkern war bei allen markierten Präparaten sehr groß (siehe Photo Nr. 1). Eine Differenzierung einzelner Körner war nicht möglich; ein Unterschied in der Markierungsstärke zwischen 12 und 24 Tagen war nicht festzustellen.

Ähnlich verhielt es sich bei den Präparaten von Patienten mit einem Astrozytom (Pat. VI-X). Alle Präparate sind postoperativ angefertigt, zeigen erhöhte Zellzahlen und deutlich aktivierte Zellen. Die Markierungsindices sind - bis auf eine Ausnahme - alle kleiner als 1%. Am häufigsten sind transformierte Lymphozyten markiert; in einem Präparat auch Monozyten. Bei Patient VI wurden außerordentlich viele Makrophagen - Zeichen der Erythrozytenphagozytose - gefunden.

In keinem der Präparate waren Tumorzellen nachweisbar. Der hohe Markierungsindex bei Patient X (MI_{total} bis 4,6%; siehe Photo Nr. 2) ist



*Photo 1: Patient II; Präparat 7
Untersuchungstag: 1. 10. 76
Medulloblastom
Operation 21. 9. 76
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000 fach
Stark markierte Zellkerne von zwei transformierten
Lymphozyten. Oben links im Bild ein Monozyt.
Im Kern sind deutlich weiße Nucleoli zu erkennen.*

*Photo 2: Patient X; Präparat 24
Untersuchungstag: 15. 10. 74
Astrozytom
6 Wochen nach Operation
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000 fach
Markierungsindex: 2,8%
Starke Markierung von 3 transformierten Lymphozyten.
Eine längere Expositionszeit hätte keinen Informations-
gewinn gebracht.*

sicher darauf zurückzuführen, daß neben der Tumorerkrankung eine Infektion mit Pseudomonas-erregern vorlag (s. auch unter 3.3).

Alle Präparate von Patienten mit einem Glioblastom (Pat. XI-XIV) wurden postoperativ angefertigt. Sie zeigten eine starke Reizpleozytose und einen hohen Prozentsatz an polymorphkernigen Leukozyten. Die Markierungsindices lagen zwischen 0 und 0,8%. Markiert waren transformierte Lymphozyten und Makrophagen. Bei den Patienten XI und XIII waren die lymphozytären Zellen fast ausschließlich transformiert. Tumorzellen waren nicht nachweisbar.

Die Präparate der Patienten mit Akustikusneurinom (Pat. XVI und XVII) und Spongioblastom (Pat. XVIII, XIX und XX) weisen keine Besonderheiten auf. Alle sind postoperativ angefertigt. Es besteht eine Reizpleozytose. Der totale Markierungsindex ist niedrig (0-1,25%). Am häufigsten sind große Lymphozyten (bis 2,78%) markiert.

Die beiden Ependymome (Pat. XXIV, XXV), obgleich histologisch als maligne differenziert und bereits mehrfach operiert, weisen lediglich Markierungsindices zwischen 0,05 und 0,2% auf. Bei Präparat XXV wird das Zellbild fast ausschließlich durch Tumorzellen bestimmt. Die in diesem Präparat markierte Zelle ist tumorverdächtig.

Präparat 65 (Pat. XXVI; Optikusgliom) weist 2 Jahre nach subtotaler Operation und nachgewiesenem ausgedehntem Rezidiv keine Tumorzellen auf. Es liegt eine normale Zellrelation und eine nur gering erhöhte Zellenzahl vor. Auffallend ist der hohe Anteil an Zellen mit isomorphem, mäßig chromatinreichem Kern und breit vakuolig aufgetriebenem Zytoplasma - an Makrophagen erinnernd. Kriterien für Zellmalignität fehlen. Der Markierungsindex ist Null.

Einen relativ hohen Markierungsindex in der Reihe der autochthonen Tumoren weisen lediglich drei Präparate auf:

- Präparat 66 (Pat. XXVII; Verdacht auf malignen Caudaprozeß) mit einem MI_{total} von 2%. Alle markierten Zellen waren Tumorzellen, der Tumorzellanteil betrug 73% im Differentialzellbild.
- Präparat 67 (Patient XXVIII; Plexuscarcinom). Mit 5,5% liegt hier der höchste Markierungsindex in der Gruppe der autochthonen Hirntumoren vor. Alle markierten Zellen sind Tumorzellen; das Zellbild wird zu 100% von Tumorzellen beherrscht.
- Präparat 69 (Pat. XXX; Hirntumor unklarer Dignität; inoperabel). Der Markierungsindex liegt bei 2,85%. Die Zellzahl ist leicht erhöht, Tumorzellen können nicht nachgewiesen werden; es besteht eine geringe Vermehrung der Monozyten und Lymphozyten. Die markierten Zellen können nicht eindeutig identifiziert werden.

3.2 Metastasierende Tumoren (Hirn- und Meningealmetastasen)

In dieser Gruppe wurden 32 Präparate von 9 Patienten ausgewertet (siehe Tabelle S. 25). Von 2 Patienten liegen Verläufe vor. Grunderkrankung war bei 5 Patienten ein Carcinom, bei je 2 Patienten ein malignes Melanom bzw. Lymphosarkom.

Der Anteil der Tumorzellen an der Gesamtzellenzahl reichte von 0 bis 97%. Der Markierungsindex lag zwischen 0 und 17,5%. Zum überwiegenden Teil handelte es sich bei den markierten Zellen um Tumorzellen und transformierte Lymphozyten. Es wurden aber auch verschiedentlich markierte Monozyten und Makrophagen gefunden.

Bei Patient (XXXI; Präparat 70) mit der Diagnose eines Magen-Ca mit Hirnmetastasen waren 4,4% aller Zellen markiert. Der Tumorzellenanteil betrug 15%. Auf die einzelnen Zellarten umgerechnet ergaben sich 3,2% markierte Lymphozyten, 4% markierte monozytäre Zellen und 10% markierte Tumorzellen. Bei diesem Patienten konnte bereits aus der Zellmorphologie der Verdacht auf ein Carcinom geäußert werden (s. Photo 3).

Niedrig (0-1%) lagen die Markierungsindices bei den übrigen Präparaten aus der Carcinomgruppe (Pat. XXXII-XXXV; Präp. 72-79). In allen Fällen war bereits vor der Liquorentnahme eine Methotrexatbehandlung eingeleitet worden. Die markierten Zellen gehörten bis auf wenige Ausnahmen alle in die Gruppe der lymphozytären Zellen.

Bei den beiden Patienten (XXXVI und XXXVII) mit einem malignem Melanom war die Erkrankung weit fortgeschritten. Einmal lag eine Metastasierung in die Hirnhäute, einmal in den Wirbelkanal vor. Vom letztgenannten Patienten liegt nur ein Präparat nach lokaler Entfernung des Tumors und Bestrahlung vor. Die Zellzahl ist niedrig (16/3 Zellen). Tumorzellen waren nicht nachweisbar. Auf 100 Zellen war lediglich eine markiert.

Von Patient XXXVI (Melanom; Präp. 80-87) liegt ein Verlauf vor (siehe Abb. 1). Am 9.3.77 wurde mit einer Methotrexattherapie begonnen. An diesem Tag lag die Zellzahl bei 360/3 Zellen; 84% der Zellen waren Tumorzellen. Das bedeutet, daß der Tumorzellindex 17,4% betrug. Am 14.3. sinkt der Tumorzellenanteil von 84% auf 74%, die Zellzahl sinkt auf 104/3



*Photo 3: Patient XXXI; Präparat 70
Untersuchungstag: 1. 10. 71
Magencarcinom
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000 fach*

*Dicht markierter Zellkern einer monströsen Tumorzelle.
Daneben eine kleinere, ebenfalls markierte Tumorzelle.*

Zellen; der Mitoseindex bleibt bei 3%. Der totale Markierungsindex steigt hingegen leicht auf 14,8% an, der Tumorzellindex auf 20%. Am 17.3. ist ein Abfall (mit Ausnahme des Mitoseindex) sämtlicher Parameter zu beobachten. Dieser Abfall setzt sich kontinuierlich bis zum 21.4.77 fort: Zellzahl 6/3 Zellen; Relation Lymphozyten/Monozyten annähernd normal. Es sind keine Tumorzellen mehr nachweisbar. Der Markierungsindex ist Null, der Mitoseindex liegt unter eins (siehe auch Abb. 2, 3 und Photos 4, 5, 6 und 7). Am 13.6.77 schließlich war die Zellzahl wieder leicht erhöht, es waren jedoch keine Tumorzellen nachzuweisen, die Zellrelation war normal.

Daten zu Patient XXXVI

<i>Unter- suchungs- tag</i>	<i>Zellzahl</i>	<i>Tumor- zellen in %</i>	<i>MI_{total}</i>	<i>M_{Tm}</i>	<i>Mit-Ind.</i>	<i>Methotrexat</i>
9.3.77	360/3	84	14,4	17,1	3	25 mg
14.3.77	104/3	74	14,8	20,0	4	25 mg
17.3.77	34/3	53	7,8	18,1	3	25 mg
23.3.77	52/3	10	1,0	10,0	1	25 mg
29.3.77	31/3	7	0	0	1	25 mg
6.4.77	16/3	5	0	0	1	25 mg
21.4.77	6/3	0	0	0	1	25 mg
13.6.77	12/3	1?	0	0	1	25 mg

Abb. 1

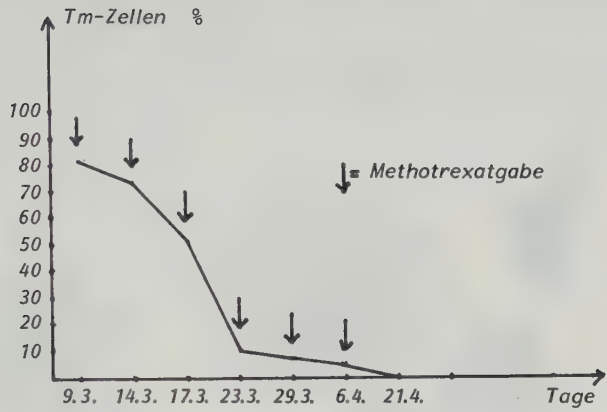


Abb. 2

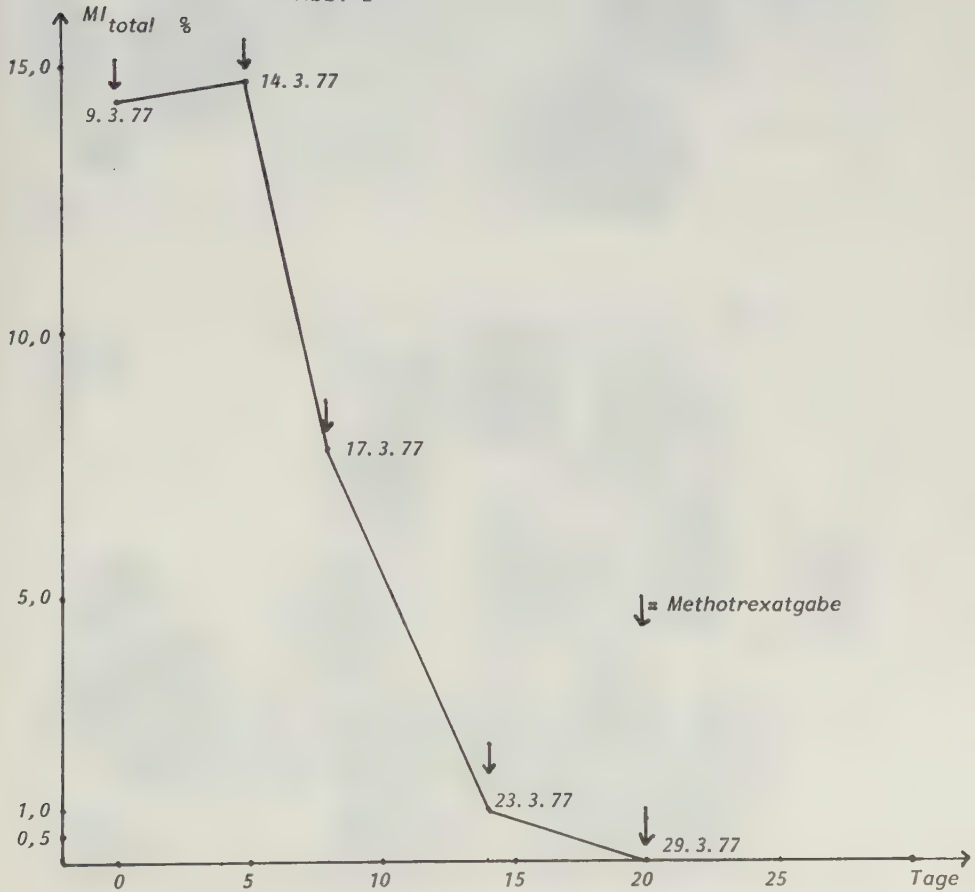
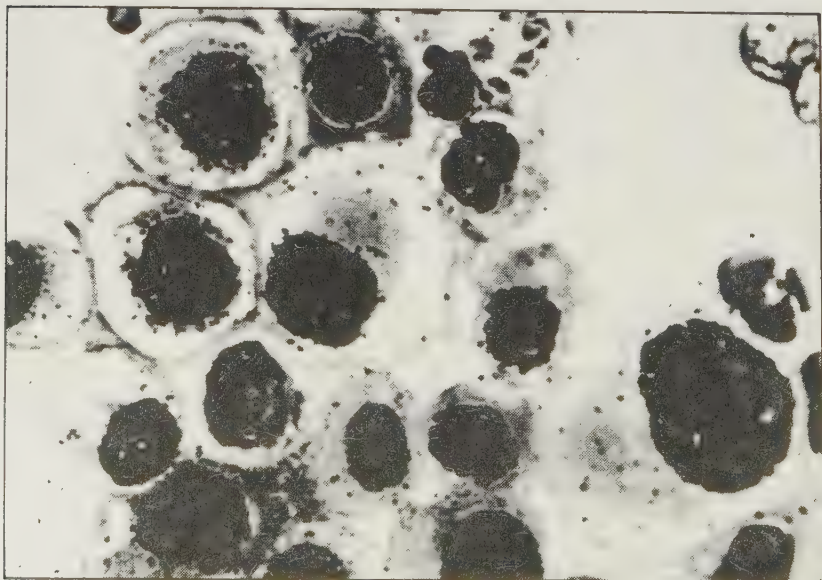
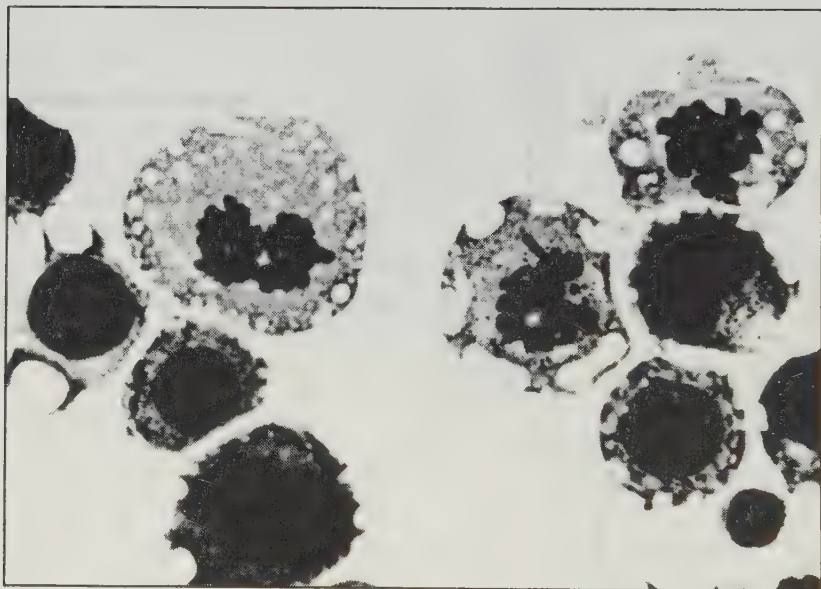


Abb. 3

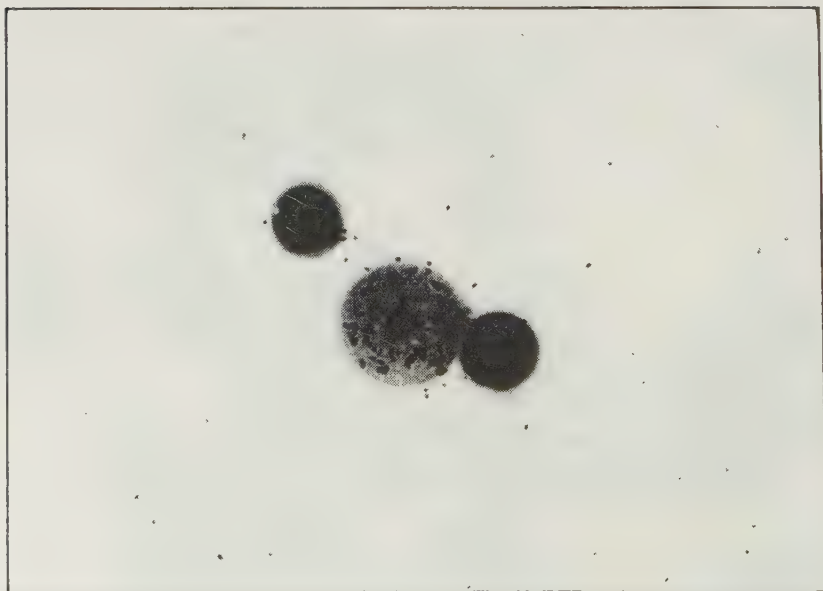
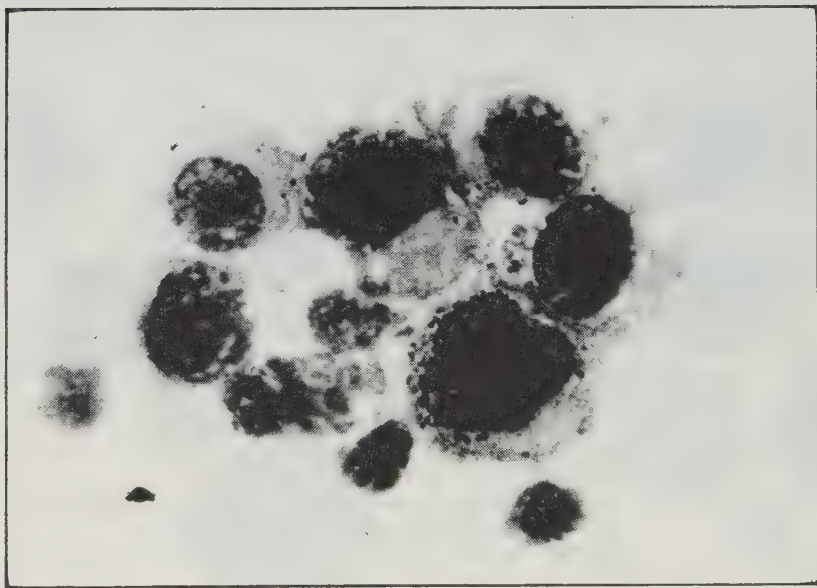


*Photo 4: Patient XXXVI; Präparat 80
Untersuchungstag: 9. 3. 77
Melanom; Meningiosis carcinomatosa
Normalpräparat
Vergrößerung: 1000 fach*

*Das Zellbild wird beherrscht von großen, zahlreiche
Malignitätskriterien aufweisenden Zellen.
Mehrere Mitosen; Melanineinlagerungen.*

*Photo 5: Patient XXXVI; Präparat 80
Untersuchungstag: 9. 3. 77
Melanom; Meningiosis carcinomatosa
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000 fach*

*Fast alle Zellen sind markiert. Geringe Hinter-
grundaktivität.*



*Photo 6: Patient XXXVI; Präparat 81
Untersuchungstag: 14. 3. 77
Melanom; Meningiosis carcinomatosa
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000 fach
Durch Cytostatikagabe veränderte Zellen.
Eine markierte Tumorzelle.*

*Photo 7: Patient XXXVI; Präparat 82
Untersuchungstag: 17. 3. 77
Melanom; Meningiosis carcinomatosa
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung 1000 fach
Zellzahl deutlich rückläufig; eine markierte Tumorzelle.*

Von den Patienten mit Lymphosarkom liegen insgesamt 12 Präparate vor. Präparat 100 und 101 von Patient XXXIX zeichnen sich durch hohe Zellzahl und einen Tumorzellanteil von 95% aus. Der Mitoseindex beträgt 3%, der totale Markierungsindex 10%. In Präparat 101 ist die Zellzahl stark vermindert (10/3 Zellen). Es finden sich keine Tumorzellen mehr. Der Markierungsindex ist Null. Die starke Veränderung des Zellbildes ist auf die Gabe von Methotrexat zurückzuführen.

Vom zweiten Patienten mit Lymphosarkom liegen 10 Präparate aus dem Zeitraum vom 18.5. bis 15.7.76 vor (s. Abb. 4). Die Serie beginnt am 18.5.76 mit einem völlig normalen Zellbild, normaler Zellrelation und im Normbereich liegender Zellzahl. Zytologisch sind keine Tumorzellen nachzuweisen. Es fand sich jedoch ein Markierungsindex von 7%. Markiert sind große, proliferierende Lymphozyten sowie monozytäre Zellen. Das Präparat vom 9.6.76 bietet dagegen ein ganz anderes Bild: Anstieg der Zellzahl, hoher Tumorzellanteil von 97% und einen Markierungsindex von 12,8%; auf die Tumorzellen bezogen von 13,2%. An diesem Tag wird mit einer Methotrexattherapie begonnen. Nach einem leichten Anstieg von Zellzahl, Markierungsindex und dem Tumorzellanteil fällt unter der Behandlung die Zellzahl kontinuierlich bis auf 9/3 Zellen ab, der Tumorzellanteil und der Markierungsindex sinken auf Null. Die Zellrelation ist normal (s. dazu Abb. 5, 6 und Photos 8, 9 und 10). Der Patient verstarb 6 Wochen nach Therapiebeginn.

Daten zu Patient XXXVIII

Unter- suchungs- tag	Zellzahl	Tumor- zellen in %	MI _{total}	MI _{Tm}	Mit.-Ind.	Methotrexat
18.5.76	9/3	-	7,0	-	1	-
9.6.76	659/3	97	12,8	13,2	8	25 mg
10.6.76	772/3	98	17,5	17,9	10	25 mg
14.6.76	57/3	13	1,0	7,9	6	25 mg
18.6.76	60/3	4	0	0	2	25 mg
29.6.76	9/3	-	-	-	1	25 mg
15.7.76	10/3	-	-	-	1	25 mg

Abb. 4

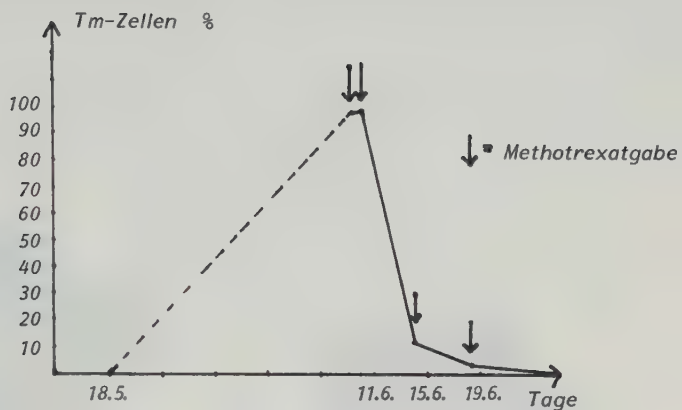


Abb. 5

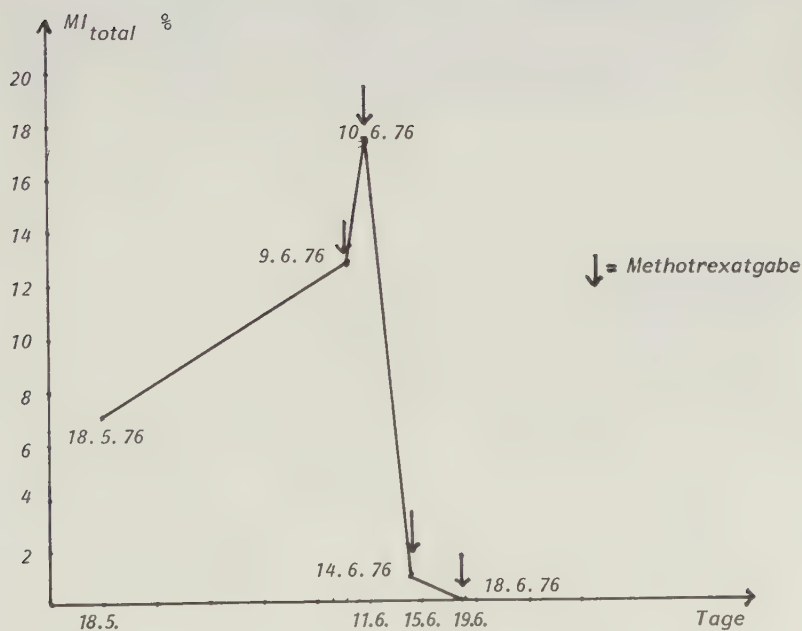
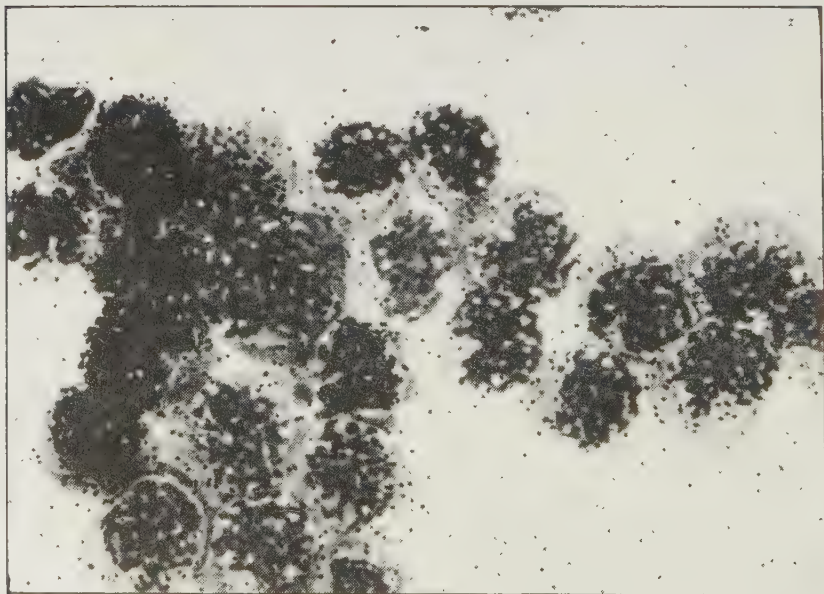
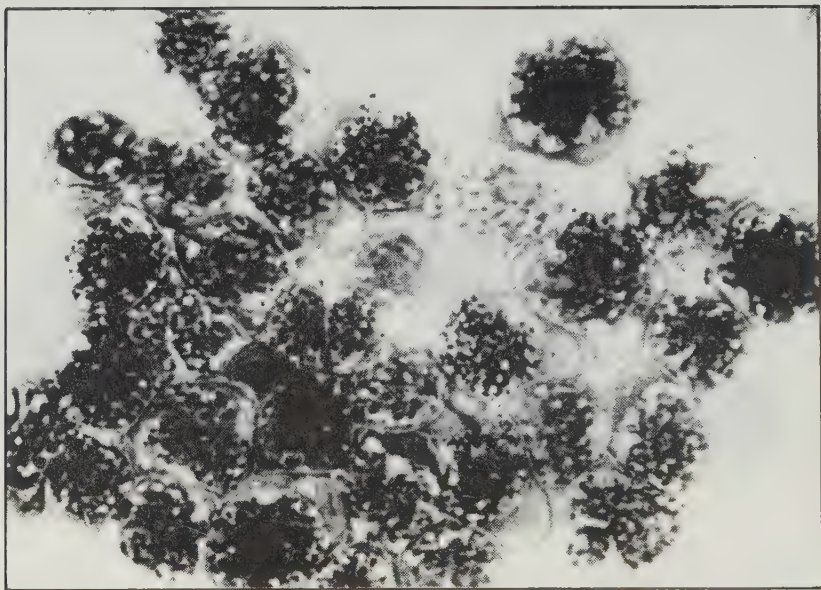


Abb. 6



Photo 8: Patient XXXVIII; Präparat 91
Untersuchungstag: 9. 6. 77
Lymphosarkom
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000fach

Uniformes Zellbild. Vier Zellen sind markiert.
Die einzelnen Silberkörner sind deutlich voneinander zu unterscheiden. $MI_{total} = 12,8\%$



*Photo 9: Patient XXXVIII; Präparat 93
Untersuchungstag 10.6.76
Lymphosakom
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000fach*

*Vergleich der Markierung mit Photo Nr. 10.
Deutliche Markierung von 9 Zellen. 5 Zellen sind
nur sehr schwach markiert. Sie wurden bei der
Auswertung als nicht markiert gezählt. Fehlende
Hintergrundaktivität.*

*Photo 10: Patient XXXVIII; Präparat 94
Untersuchungstag: 10.6.76
Lymphosarkom
ARG-Expositionszeit 24 Tage
Vergrößerung: 1000fach*

*Sehr intensive Markierung der Zellkerne. Im
Vergleich zu Photo 9 ist die Silberkornzahl/Zell-
kern sehr viel höher. Deutliche Hintergrund-
aktivität.*

3.3 Nicht-neoplastische Erkrankungen

3.3.1 Entzündliche Erkrankungen

- a) als primäre Krankheitsursache
- b) bei anderer Grunderkrankung
- c) als unspezifische Reizpleozytose

zu a)

Ausgewertet wurden 11 Präparate von 7 Patienten (s.S. 27). Bis auf eine Ausnahme lagen die Markierungsindices weit unter 1% oder waren Null. Lediglich bei Patienten XLVI (Präp. 112) konnte ein Markierungsindex von 5% nachgewiesen werden. In diesem Präparat war die Zahl der markierten, monozytären Zellen mit 12,5% groß. Die Präparate von den Patienten (XLIII, Lymphozytäre Meningoenzephalitis und XLIV, Pneumokokkenmeningitis) zeigten Markierungsindices von 0,1% und 0,133%, wobei die markierten, aktivierten Lymphozyten überwogen.

zu b).

Es liegen 10 Präparate mit bakteriellen Infektionen bei anderer Grunderkrankung vor (s.S. 27). Bei Patient X (siehe auch unter autochthonen Tumoren) bestand neben dem Astrozytom eine Infektion mit Pseudomonas-erregern. Markierungsindices bis 4,6% wurden hier gefunden. Hauptsächlich markiert waren aktivierte Lymphozyten. Bei Patient XIV (Glioblastom und bakterielle Infektion) waren keine Zellen markiert. 96% der Zellen im Differentialzellbild waren Granulozyten. Bei Patient LI (Porencephalie und Infektion mit Staphylokokkus aureus) lag der Markierungsindex bei 0,25 bis 0,3%. Markiert waren wiederum in der Hauptsache lymphozytäre Zellen.

zu c)

Hierunter fallen die meisten Präparate aus der Gruppe der autochthonen Tumoren. Postoperativ trat immer eine Reizpleozytose auf. Auch bei den Patienten XLVIII, XLIV und LI sprechen die hohen Zellzahlen für Reizpleozytosen, die auf Blutungen oder eine Infektion im Gehirn zurückzuführen sind. Diese Präparate sind unter 3.3.2 aufgeführt. Die Markierungsindices und die Art der markierten Zellen sind unter der jeweiligen Gruppe besprochen.

3.3.2 Nicht-entzündliche Erkrankungen

Von 5 Patienten mit nicht-entzündlichen Erkrankungen des ZNS liegen 11 Präparate vor (s.S.28). Bei Patient (LI, Präparat 120-123) lag neben einer Porenzephalie eine bakterielle Infektion mit Staphylokokkus aureus vor. Der Markierungsindex lag zwischen 0,25 und 0,3%. Markiert waren überwiegend transformierte Lymphozyten. Keine Markierung war in den Präparaten des Patienten XLVII mit einer Subarachnoidalzyste, des Patienten L mit diabetischer Polyneuropathie und des Patienten XLVIII mit einem Schädel-Hirn-Trauma II. Grades nachweisbar. Ganz gering war die Zahl der markierten Zellen in den Präparaten 117 und 118 mit 0,05 und 0,066%. Hier bestand neben einem Schädel-Hirn-Trauma eine intrakranielle Blutung. Die hohen Zellzahlen und der hohe Anteil an Makrophagen mit Erythrozytenspeicherung weisen auf diese Diagnose hin.

Es ist anzunehmen, daß die Markierung in den Präparaten 120-123 (Pat. LI, Porenzephalie und bakterielle Infektion) auf die Infektion mit Staphylokokkus aureus zurückzuführen ist.

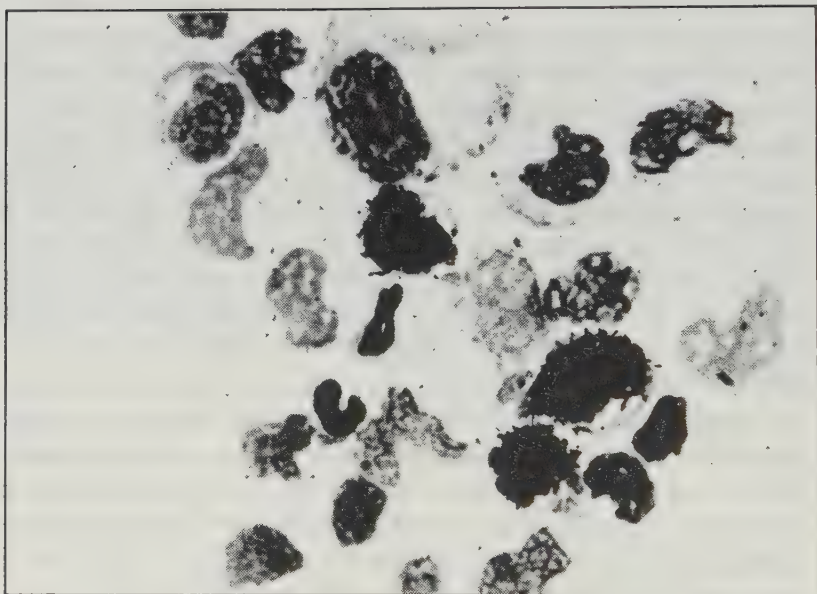
Berücksichtigt man ausschließlich die Patienten, bei denen eine nicht-entzündliche Erkrankung des ZNS bestand, so sind in deren Liquorzellen keine Markierungen mit $\frac{1}{3}\text{H}$ -Thymidin nachweisbar.

3.3.3 Liquor bei frühkindlichem Hydrozephalus

Von 3 Patienten - 1, 2 und 7 Jahre alt - mit einem Hydrozephalus liegen sechs Präparate vor (s.S.29, Tabelle 5). Alle Präparate dieser Gruppe zeigen Zellmarkierungen. Der Gesamtmarkierungsindex reicht dabei von 1,8 bis 4.4%. Auffällig - insbesondere im Präparat 124 - war der hohe Anteil an großen, monozytären Zellen. Mit 4,4% lag der Markierungsindex der monozytären Zellen bei Patient LII (Präparat 124) deutlich höher als der Anteil an markierten lymphozytären Zellen. Insgesamt waren jedoch die transformierten Lymphozyten (bis 4,28% markierte Zellen; siehe Photo 11) am häufigsten markiert; vereinzelt gab es auch Markierungen bei Makrophagen.

Obwohl bei Patient LVIII (Präparat 125-127) der Verdacht auf einen ventrikelnahen Tumor bestand, waren in dem Präparat morphologisch keine eindeutigen Tumorzellen nachzuweisen. Es fand sich aber ein Zellverband mit acht bis zehn Zellen, die aus dem physiologischen Rahmen fielen und als tumorverdächtig einzuordnen waren. Es kann sich um einen Ependymzellverband gehandelt haben. Die Markierung einer Zelle aus diesem Verband spricht allerdings gegen letztere Annahme; es wurden noch nie markierte Ependymzellen beobachtet (KOLMEL 1977 unveröffentlicht). In Tabelle 5 (S. 29) sind diese nicht näher einzuordnenden Zellen als Tumorzellen aufgeführt. Auch die markierte Zelle aus diesem Zellverband wurde den Tumorzellen zugeordnet.

Bei Patient LIV (Präp. 128 und 129) lag außer dem Hydrozephalus externus und internus eine Colimeningoenzephalitis vor. Die Zelldifferenzierung dieser Präparate war sehr schwierig, da die einzelnen Zellen (möglicherweise durch die hohen Antibiotikagaben) starke Veränderungen aufwiesen. Mit 3,6 und 4,4% war der Markierungsindex deutlich höher als in den vorher beschriebenen Präparaten. Der Gesamtmarkierungsindex - wie der Differentialmarkierungsindex - weist zwischen 12- und 24tägiger Exposition deutliche Unterschiede auf. Die Zellen des Präparates mit 24tägiger Exposition zeigen eine stärkere Markierung. Dieser Unterschied war nicht immer zu beobachten. So zeigten teilweise die Zellen nach 12tägiger Exposition bereits eine so starke Markierung der Kerne, daß eine Auszählung der Silberkornzahl nicht mehr möglich war. Eine Verdoppelung der Exposition auf 24 Tage kann dann zu keiner Zunahme der Markierungsstärke mehr führen.



*Photo 11: Patient LII; Präparat 124
Untersuchungstag: 18.11.76
Hydrocephalus externus et internus
ARC-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000fach
Drei stark markierte Lymphozyten. Unten in
Bildmitte Makrophage mit vakuoligem Plasma.
Die übrigen Zellen sind durch antibiotische
Therapie verändert.*

3.4 Meningiosis leucämica

Ausgewertet wurden 26 Präparate von 7 Patienten mit folgenden Erkrankungen: 2 unreifzellige Leukämien, 2 Myeloblastenleukämien, eine Lymphoblastenleukämie, eine Monozytenleukämie und eine chronisch lymphatische Leukämie. Alle Präparate wurden unter cytostatischer Therapie mit der Stripping-Methode hergestellt (s.S. 12).

In den Präparaten 130 bis 135 des Patienten mit Lymphoblastenleukämie weisen nur die Präparate 130 und 131 mit 2,4% und 1,8% eine Markierung auf. Markiert waren große Lymphozyten und in Präparat 131 Tumorzellen. Bei den sich zeitlich daran anschließenden Präparaten war eine Zelldifferenzierung wegen der stark veränderten Zellen nicht möglich. Markierte Zellen konnten nicht gefunden werden. Eindeutige Tumorzellen waren nicht nachweisbar. Die Zellzahl blieb unter cytostatischer Therapie zwischen dem 10.11.71 und dem 14.5.72 annähernd konstant.

Ebenfalls keine Tumorzellen waren in den Präparaten von Patient LVI (chronisch lymphatische Leukämie) nachweisbar. Die Zellzahl war leicht erhöht. Im Präparat 136 mit einer 12tägigen Expositionszeit waren keine markierten Zellen nachweisbar. Dagegen lag der Markierungsindex im Präparat mit 24tägiger Exposition bei 0,2%. Markiert waren große, transformierte Lymphozyten.

Der höchste Markierungsindex in dieser Gruppe war in den Präparaten 138-140 des Patienten LVII mit Monozytenleukämie zu verzeichnen. Im Präparat 138 vom 10.5.73 markieren sich zunächst nur wenige Zellen ($MI_{\text{total}} = 1,35\%$). Die Zellzahl ist hoch, der Tumorzellanteil liegt bei 85%. Markiert sind Tumorzellen und große, transformierte Lymphozyten. Vier Tage später - Tumorzellanteil 90% - steigt der Markierungsindex auf 8% an. Sämtliche markierte Zellen sind Tumorzellen (s.Photo 12). Weitere vier Tage später können bei einer Zellzahl von 16/3 Zellen und einem Tumorzellanteil von 20% keine markierten Zellen mehr nachgewiesen werden.

In den Präparaten 141 bis 145 der Patienten LVIII und LIX mit Myeloblastenleukämie waren alle markierten Zellen Tumorzellen. Der Markierungsindex in den Präparaten 141 und 142 (Pat. LVIII) lag bei 1% bei relativ niedriger Zellzahl und einem Tumorzellanteil von 30 bis 40%. Bei

Patient LIX kommt es nach cytostatischer Therapie zunächst zu einem Absinken der Zellzahl, der Markierungsindex liegt bei 1,6 bzw. 2,0%. Innerhalb von zwei Tagen steigt dann die Zellzahl, geringfügig auch der Markierungsindex (2,4%) an. Der Tumorzellanteil ist mit 80% konstant. Drei Tage später verstirbt der Patient.

Bei den Präparaten (146-155) von den Patienten LX und LXI mit unreif-zelliger Leukämie fällt der niedrige Markierungsindex trotz sehr hohem Tumorzellanteil auf. Die markierten Zellen waren durchweg Tumorzellen, der höchste Markierungsindex lag jedoch lediglich bei 0,33% bzw. 1,06%. Dies ist auf die zum Zeitpunkt der Untersuchung bereits durchgeführte Therapie mit Methotrexat zurückzuführen. Der Therapieerfolg ist bei Patient LXI gut am Abfall von Zellzahl (von über 800/3 Zellen auf 45/3 Zellen), dem sinkenden Tumorzellanteil (von 95 auf 40%) und dem Markierungsindex, der bereits nach 23 Tagen auf Null absinkt, abzulesen. Im letzten Präparat dieses Patienten bestimmen trotz niedriger Zellzahlen wieder die Tumorzellen völlig das Bild; zu einer Markierung kommt es jedoch nicht. Ähnlich verhält es sich bei Patient LX. Unter cytostatischer Therapie zunächst Abfall der oben genannten Parameter. Einen Monat später kommt es unter Therapie zum Rezidiv mit Anstieg der Zellzahl und des Tumorzellanteils ohne Nachweis einer Markierung.

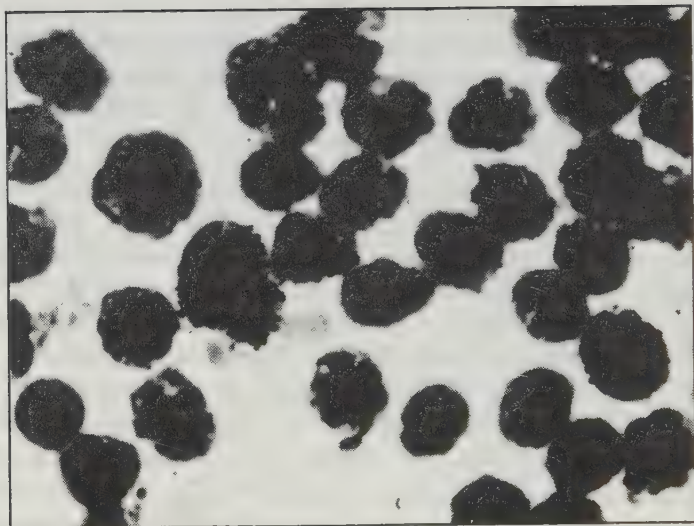


Photo 12: Patient LVII; Präparat 139
Untersuchungstag: 14. 5. 73
Monocytenleukämie
ARG-Expositionszeit 12 Tage
Vergrößerung: 1000fach

Uniformes Zellbild. Tumorzellen. Zwei
stark (linke Bildmitte), eine mäßig
(rechts unten), eine schwach (Bild-
mitte oben) markiert.

4. DISKUSSION

4.1 Autochthone Hirntumoren

Mit den meisten anderen Autoren stimmen die vorliegenden Ergebnisse über die geringe Markierungsbereitschaft von Liquorzellen mit ^3H -Thymidin bei autochthonen malignen Hirntumoren überein.

Nur wenige Präparate stammen von Patienten mit unbehandelten Tumoren. Die meisten wurden postoperativ angefertigt. Dies spielt jedoch für die Interpretation keine Rolle. Für die Vergleichbarkeit von prae- und postoperativen Präparaten sprechen die Befunde von BALHUIZEN et al. (1978). In einer vergleichenden Untersuchung von prae- und postoperativen Präparaten konnte er bei Patienten mit einem malignen Gliom in 13,9% der Fälle die korrekte Diagnose vor der Operation, in 39,7% der Fälle nach der Operation stellen. Bei Medulloblastomen lagen die Werte bei 11,7% (praeoperativ) und 91% postoperativ. Die Untersucher schließen daraus, daß operative Eingriffe die Ausschwemmung von Tumorzellen in den Subarachnoidalraum begünstigen. Zu ähnlichen Ergebnissen - sie werden von den Autoren anders interpretiert - kommen WILKINS und ODOM (1966). In einer Gruppe von 26 Patienten mit malignem Gliom konnten sie in drei von 30 Liquorproben, die vor und während der Operation entnommen wurden, eine korrekte Diagnose stellen. Postoperativ entnommene Proben bei denselben Patienten ermöglichten jedoch in 27 von 65 Fällen die richtige Diagnose.

Mit Ausnahme der drei Präparate (66, 67 und 69), die hoch markiert waren, stimmen die Ergebnisse dieser Untersuchung gut mit denen von JOHNSON et al. (1960), CHIGASAKI (1963), HOSHINO (1972), DOMMASCH et al. (1977), KÖLMEL (1977), OHTA, FUKUI et al. (1977) und KÖLMEL (1978) überein.

JOHNSON et al. (1960) beschreibt eine Markierungsrate von 0,6% bei einem Glioblastoma multiforme. CHIGASAKI (1963) fand einen Markierungsindex von 0,94% bei einem Glioblastom, 0,44% bei einem Astrozytom und 0,33% bei einem Oligodendrogliom. HOSHINO et al (1972) berichtet von 0,8 bis 8,2% markierten Zellen bei Astrozytomen je nach Differenzierungsgrad. Diese Untersuchungen sind allerdings keine Liquorzell-

untersuchungen. JOHNSON et al. (1960) und HOSHINO et al. (1972) verabreichten den Tumorpatienten kurz vor der Operation intravenös ^1_3H -Thymidin und untersuchten dann die Operationsschnitte. CHIGASAKI (1963) inkubierte die Operationsschnitte mit ^1_3H -Thymidin. Die Ergebnisse dieser Untersuchungen sind - da methodisch anders erzielt - mit den nachfolgenden, die durch die Autoradiographie bei Liquorzellen ermittelt wurden, nur bedingt vergleichbar. YAMAKA (1976) untersuchte bei 45 Patienten mit verschiedenen Hirntumoren die Markierungsrate. Die Markierungsindices lagen alle unter zwei Prozent. DOMMASCH et al. (1977) fanden einen Markierungsindex von 1% bei einem Glioblastom und weniger als 0,1% bei einem Medulloblastom. Auch die Markierungsindices, die OHTA et al. (1977) bei malignen, primären Hirntumoren beschreiben, zeichnen sich durch ihre niedrige Höhe aus. Bei Gliomen, Medulloblastomen, Astrozytomen und Ependymomen lagen sie bei oder unter einem Prozent. Lediglich ein Glioblastom und ein Astrozytom zeigten einen Markierungsindex von 2%, ein Medulloblastom von 5,1% und ein Ependymom von 3,8%. KÖLMEL (1978) berichtet über 25 Fälle von autochthonen Hirntumoren, allerdings ohne die Markierungsindices zu nennen. Er kommt zu dem Ergebnis, daß nur sechsmal durch die ARG der nach dem panoptischen Bild geäußerte Verdacht auf Malignität erhärtet werden konnte.

In der vorliegenden Untersuchung war der Markierungsindex - mit Ausnahme der Präparate 66, 67 und 69 (s.S.36) - in der Gruppe der autochthonen Tumoren sehr niedrig. Sowohl bei den Medulloblastomen, den Glioblastomen, Spongioblastomen, Ependymomen und Astrozytomen lag der Markierungsindex unter oder um ein Prozent. Hauptsächlich werden transformierte Lymphozyten markiert. Läßt man die oben genannten Präparate 66, 67 und 69 außer Acht, so kommt es lediglich in einem Präparat zur Markierung einer fraglichen Tumorzelle.

Davon abweichend beschreiben KURY und CARTER (1965) höhere Markierungsindices für autochthone Hirntumoren: 2% bei Astrozytom II, 3,6 bis 7,4% bei Astrozytom III-IV, 1,2 bis 1,6% bei Meningiom und 5,5% bei einem Chordom. Hohe Werte fanden auch FUKUMA et al. (1969) für Astrozytome: 1,5 bis 11,7% je nach Stadium; für ein Oligodendrogliom 4,1% und 8,1% für ein Medulloblastom. Ähnlich hohe Werte sind bei keinem anderen Autor zu finden. HOSHINO (1972) berichtet von hohen

Werten bei Glioblastom (4,4 bis 11,4%). Die Ergebnisse in den drei letztgenannten Untersuchungen sind methodisch anders erarbeitet worden. HOSHINO et al. (1972) gaben Patienten mit Hirntumoren präoperativ intravenös ^3H -Thymidin und untersuchten nach der Operation Gewebsschnitte auf markierte Zellen (s.S.62). KURY und CARTER (1965) und FUKUMA et al. (1969) injizierten lokal ^3H -Thymidin in das Tumorgewebe während oder kurz nach der Operation und untersuchten die dann erstellten Gewebsschnitte. Möglicherweise ist die von HOSHINO, FUKUMA und KURY und CARTER gefundene hohe Markierungsrate auf eine höhere Zahl lebender, nicht geschädigter Zellen, die in der Lage sind, ^3H -Thymidin zu inkorporieren, zurückzuführen.

In der Reihe der autochthonen Hirntumoren scheinen die Astrozytome III-IV eine Ausnahmestellung einzunehmen. Alle Autoren berichten über hohe Markierungsindices.

Auf die Schwierigkeit einer liquorcytologischen Diagnose von autochthonen Hirntumoren weisen Untersuchungen immer wieder hin. Die Angaben über die Höhe von cytologisch richtig gestellten Diagnosen schwanken jedoch erheblich. So fanden BISCHOFF (1961) in 62,7% und BOTS et al. (1964) in einer zahlenmäßig kleinen Untersuchung in 50% aller Fälle richtige Diagnosen bei primären Hirntumoren und in 91,7% bei sekundären Hirntumoren. Dagegen sind die Prozentangaben bei SAYK und OLISCHER (1967) mit 7,3% bei primären Hirntumoren und 20,9% bei sekundären Hirntumoren sehr viel niedriger. Ähnliche Angaben machen BALHUIZEN et al. (1978) in einer großen Untersuchung. Bei primären Hirntumoren konnten sie in 16,3% der Fälle eine korrekte Diagnose stellen. Für einzelne Tumoren fanden sie folgende Werte: 13,9% für Gliome, 18,1% für Ependymome und 17% für Astrozytome Grad III-IV. Sehr viel höher liegen die Prozentangaben für sekundäre Hirntumoren: 20% für lokalisierte metastatische Hirntumoren und 100% bei Carcinomatose oder Sarkomatose.

Tumoren des ZNS sind im Liquor nur nachweisbar, wenn die Geschwulst die innere oder äußere Oberfläche des ZNS erreicht und Zellen in den Liquorraum exfoliiert. Die Leptomeningen reagieren auf alle exterozeptive Reize, so auch auf den Fremdkörper Tumor mit einer Reizpleozytose (ENGELHARDT, unveröffentlicht 1977), die sich durch eine Vermehrung großer, retikulärer und monozytärer Zellen, durch Mitosen und Reaktions-

formen mit beträchtlicher Zellpolymorphie und -chromasie auszeichnen. Die Zellen primärer Hirntumoren sind häufig von denen des Reizsyndroms in Größe, enzymatischer Ausstattung und im Hinblick auf Plasma- und Kernmerkmale nur schwer zu unterscheiden. Nicht nur die zytologischen Kriterien für die Malignität der Zellen sind unsicher: autoradiographisch findet man in der Mehrzahl der Fälle bei autochthonen Hirntumoren einen höheren Prozentsatz markierter, transformierter, nicht-neoplastischer Zellen als markierter Tumorzellen. DOMMASCH (unveröffentlicht 1977) berichtet von einem Patienten mit Medulloblastom, bei dem morphologisch eindeutig neoplastische Zellverbände keine Markierung aufwiesen.

Die Schwierigkeiten in der cytologischen Diagnostik autochthoner Hirntumoren scheint man nur dadurch etwas verringern zu können, daß man nicht eindimensional - nur cytologisch, nur cytochemisch, nur autoradiographisch - verfährt, sondern mehrdimensional (KÜLMEL und CHONÉ 1972). Ein solches Vorgehen erhöht die diagnostische Aussage der einzelnen Methoden; die damit erzielten Ergebnisse bleiben jedoch unbefriedigend.

4.2 Hirn- und Meningealmetastasen

Alle Untersucher, die die Markierung mit ^3H -Thymin bei sekundären Hirntumoren untersuchten, berichten übereinstimmend von sehr hohen Markierungsindices. FUKUI (1975) beschreibt einen Fall von primärem Retikulumzellsarkom mit diffuser, subarachnoidaler Ausbreitung. Er fand eine Markierung bei 10,5% der Liquorzellen. Auf die Tumorzellen bezogen entsprach dies einem Markierungsindex von 14,4%. Der hohe Markierungsindex entsprach dem außerordentlich rasch progredienten klinischen Bild der Erkrankung.

ENGELHARD (1976) fand hohe Markierungsindices bei einer Patientin mit Meningealcarcinose bei Mammacarcinom. Der Markierungsindex lag vor der Behandlung mit Methotrexat bei 33%(!). 90% der Zellen waren Tumorzellen. Vier Tage nach Behandlungsbeginn lag der Markierungsindex bei 70% und sank nach 12 Tagen auf 23% ab. Ob diese hohen Markierungsindices auf die besondere Methodik zurückzuführen sind (Inkubation der Liquorzellen mit ^3H -Thymin während drei Stunden und die Behandlung mit Sauerstoffüberdruck (2,2 atm) für eine Stunde), kann nicht entschieden werden.

Hohe Werte fanden auch DOMMASCH et al. (1977) in ihrer Untersuchung. Sie beschreiben Markierungsindices von bis zu 30% bei Meningitis carcinomatosa, 10% bei Hirnmetastasen eines Lungencarcinoms, 30% bei einem malignen Lymphom und bis zu 10% bei Meningiosis leucämica. Auch ihnen fällt der rapide Abfall des Markierungsindex unter Cytostatikagabe auf.

KÖLMEL und CHONÉ (1972), KÖLMEL und CHONÉ (1977), KÖLMEL (unveröffentlicht 1977) und KÖLMEL (1978) beschreiben mehrfach die starke Markierung von Tumorzellen bei sekundären Hirntumoren, ohne jedoch quantitative Aussagen über die Höhe der Markierungsindices zu machen.

Die in der vorliegenden Arbeit erzielten Ergebnisse in dieser Gruppe stimmen mit den oben zitierten gut überein (siehe S.25,26 und 37-51). Die höchsten Markierungsindices wurden bei den sekundären Hirntumoren gefunden. Die Höhe des Markierungsindex korreliert mit dem Anteil der Tumorzellen an der Gesamtzellzahl und mit dem Differenzierungs-

grad des Tumors. Den prozentual höchsten Markierungsindex zeigten die Präparate (80-87) eines Patienten mit einem Melanom und Meningiosis carcinomatosa mit 14,8% (vgl. DOMMASCH et al. 1977) und eines Patienten mit einem Lymphosarkom (Markierungsindex bei 17,5%; Präp. 90-99). Am weitaus häufigsten markiert waren Tumorzellen; es wurden aber auch markierte, transformierte Lymphozyten beobachtet. Eine solch extrem hohe Markierung wie sie ENGELHARD (1976) bei Mammacarcinom und Meningialcarcinose beschreibt, konnte in der vorliegenden Untersuchung nicht festgestellt werden.

In den seltenen Fällen in denen Präparate einen niedrigen Markierungsindex aufweisen (Präp. 72-79), war ausnahmslos zuvor eine intrathekale cytostatische Therapie erfolgt.

Das Markierungsverhalten bei cytostatischer Therapie ist in Abb. 1-6 (S.40,41,46,47) dargestellt. Nach der ersten Methotrexatgabe ist ein leichter Anstieg des Markierungs- und Mitoseindex festzustellen (vgl. ENGELHARD 1976). Danach kommt es zu einem steilen Abfall dieser Parameter. Die Zellzahl und der prozentuale Anteil der Tumorzellen fallen sofort mit Beginn der Cytostatikatherapie ab.

ENGELHARD (1976) sieht eine Erklärungsmöglichkeit für diesen Befund in einer unterschiedlich langen Expositionszeit mit ^3H -Thymidin. Wahrscheinlicher ist jedoch eine relative Verlängerung der S-Phase im Zellzyklus - auf Kosten der G_1 - und G_2 -Phase - durch die cytostatische Unterdrückung der Zellteilung. Die Zellen sind noch in der Lage, ^3H -Thymidin zu inkorporieren, zur Zellteilung sind sie aber nicht mehr fähig (BREITENECKER, G., TATRA, G. 1973). Nicht erklärt ist damit der Anstieg des Mitoseindex. Denkbar wäre ein Wechsel von ruhenden Zellen in eine Wachstumsphase (KLEIN, GERECKE, BORBERG u.a. 1975). So kommt es kurz nach der Gabe von Cytostatika (z.B. Cytosin-Arabinosid oder 5-Fluorouracil) zu einer Proliferation von DNS synthetisierenden Zellen.

Wie die Untersuchungsergebnisse zeigen, können mit der ARG zwei wichtige Aussagen gemacht werden:

1. Die Höhe des Markierungsindex ist ein Maßstab für die Malignität des Tumors, d.h. es ist auch eine Aussage über die Progredienz des Krankheitsverlaufs möglich.

2. Mit der ARG kann der Verlauf einer intrathekalen cytostatischen Therapie kontrolliert werden. Der Markierungsindex scheint ein empfindlicher Indikator für die Wirksamkeit/Nichtwirksamkeit des therapeutischen Bemühens zu sein. Allerdings ist zu bedenken, daß die Ergebnisse einer ARG frühestens nach 12 Tagen zu erwarten sind. Für eine Therapiekontrolle ist diese Zeitspanne zu lang; in der Regel muß dafür die Auswertung des panoptisch gefärbten Zellpräparates genügen.

KLEIN et al. (1972), FEAUX DE LACROIX, KLEIN et al. (1973), KLEIN et al. (1975) FUKUI et al. (1975) und ENGELHARD (1976) sind ebenfalls der Ansicht, daß die Zellkinetik und indirekt die Malignität der Tumorzellen autoradiographisch besser einzuschätzen ist als nach morphologischen Kriterien.

KISELWA (1973) gibt an, durch die Autoradiographie Unterschiede zwischen Primärtumor und Metastasen feststellen zu können.

ANDRYSEK, DVORAK und STRONSKA (1971) weisen darauf hin, daß der Abfall des Markierungsindex von ^3H -Thymidin mit der Sensitivität des Tumors gegenüber Cytostatika korrespondiert.

BREITENECKER und TATRA (1973) weisen diese Korrespondenz gegenüber Strahlentherapie nach.

Bei den sekundären Hirntumoren sind die diagnostischen Schwierigkeiten geringer als bei den primären Hirntumoren. Manchmal gibt die Klinik einen Hinweis auf den Primärtumor, in vielen anderen Fällen sind die cytomorphologischen Befunde eindeutig. Karzinome sind durch ihre erheblich größeren und mit allen Malignitätskriterien ausgestatteten Zellen leicht von den normalen Liquorzellen zu unterscheiden. Adenocarcinome zeigen teilweise typische Zelleistungen. Schwierigkeiten können mesenchymale Geschwülste, Lymphome und Sarkome in Abhängigkeit von ihrem Differenzierungsgrad machen.

KÜLMEL und CHONÉ (1972) schlagen eine mehrdimensionale Vorgehensweise bei der Tumorzell Diagnostik vor. Neben dem panoptisch gefärbten Zellpräparat, das bereits in 80% der Fälle eine eindeutige Abgrenzung ermöglicht, soll in Grenzfällen zur Erhöhung der diagnostischen Sicherheit die Autoradiographie und die fluoreszenzmikroskopische Methode mit

Akridin-Orange in die Tumorzell Diagnostik einbezogen werden. Funktionelle Zellmerkmale könnten so neben den morphologischen Beurteilungskriterien für die Diagnostik herangezogen werden.

4.3 Nicht-neoplastische Erkrankungen des ZNS

4.3.1 Entzündliche - nicht-entzündliche Erkrankungen

In den Präparaten von Patienten mit entzündlichen Erkrankungen des ZNS konnte in der vorliegenden Arbeit in der Hälfte der Fälle eine Zellmarkierung nachgewiesen werden. Die Markierungsindices reichten dabei von 0,1% (Pat. XLIII, lymphozytäre Meningoenzephalitis) bis zu 5% (Pat. XLVI, lymphozytäre Meningoenzephalitis).

Markiert waren in der Hauptsache transformierte Lymphozyten; bei Präparat 112 (lymphozytäre Meningoenzephalitis) zeigten monozytäre Zellen mit 12,5% die höchste Markierung.

Die andere Hälfte der Präparate in der Gruppe der entzündlichen Erkrankungen zeigte keine Zellmarkierung - Der Markierungsindex war Null.

Konnten bei den entzündlichen Erkrankungen in 50% der Fälle eine - wenn auch geringe - Markierung nachgewiesen werden, so gelang bei den nicht-entzündlichen Erkrankungen (siehe Tabelle 4, S.28 und 3.3.2 S.53) der Nachweis einer markierten Zelle nie. Die geringe Markierungsbereitschaft der Liquorzellen bei den entzündlichen Erkrankungen und der fehlende Nachweis einer Markierung bei den nicht-entzündlichen Erkrankungen steht im Gegensatz zu der Beobachtung von Mitosen und proliferierenden Liquorzellen bei nicht-neoplastischen Erkrankungen (SAYK 1962, WEISSBACH 1967, APPEL 1973, ENGELHARDT et al. 1975)

YAMAKA, FUKUI et al. (1976) beschreiben in ihrer Untersuchung Markierungsindices von 0,08% bis 0,28% bei den entzündlichen und von 0 bis 0,5% bei den nicht-entzündlichen Erkrankungen. Die markierten Zellen waren mittlere, große Lymphozyten und monozytoide Zellen. Unter Ausschluß der Erkrankungen, die mit einem Hydrozephalus einhergehen -

jeweils keine Liquorzellen mit Markierung - ergibt sich in dieser Untersuchung ein durchschnittlicher Markierungsindex von 0,17%. Die Autoren betonen, daß es keine spezifische Beziehung zwischen dem Markierungsindex und der Art der nicht-neoplastischen Erkrankung gibt.

Zu teilweise anderen Ergebnissen kommt DOMMASCH et al. (1977). Der Markierungsindex, den er für nicht-entzündliche Erkrankungen des ZNS angibt, liegt unter 0,1% und ist für eine diagnostische Aussage nicht brauchbar. Dagegen findet er bei den entzündlichen Erkrankungen des ZNS Indices bis zu 8% bei viraler Meningitis, bis zu 6% bei Radikulitis und er glaubt auch, Korrelationen zwischen der Höhe der Markierungsindices und den Erkrankungen bzw. Erkrankungsstadien angeben zu können. Er schlägt die ARG für eine Verlaufsbeobachtung bei chronisch entzündlichen Erkrankungen, z.B. bei chronischer Meningitis und multipler Sklerose vor.

Nach DOMMASCH et al. (1977) ist die Höhe des Markierungsindex bei viralen entzündlichen Prozessen offenbar von der Akutität des Prozesses und erst in zweiter Linie von der Zellzahl abhängig. Einen speziellen Anwendungsbereich sehen DOMMASCH et al. (1977) bei entzündlichen Erkrankungen mit geringerer Zellzahl als bei der Meningitis, da die Zellproliferation auch bei Abwesenheit mitotischer Zellen und anderer signifikanter morphologischer Zeichen durch die Markierung nachgewiesen werden kann. In seiner Untersuchung wurden hauptsächlich große Lymphozyten, Lymphoidzellen und Plasmazellen markiert.

Ähnlich hohe Markierungsindices waren in der Literatur sonst bei keinem anderen Autor zu finden. Auch die Angabe von Korrelationen bestimmter Krankheitsbilder mit hohen Markierungsindices fehlte.

In einer neueren Untersuchung berichten OHTA, FUKUI et al. (1977) von Markierungsindices bei nicht-neoplastischen Erkrankungen in einer Größenordnung von 0,2 bis 0,74%. Die Ergebnisse von DOMMASCH können sie weder bekräftigen noch widerlegen, da ihr Untersuchungsmaterial keine Präparate von akuten/subakuten Virusmenigitiden oder Radikulitiden enthalten.

KÜLMEL (1978) beschreibt einen Markierungsindex von 4,5% in der exsudativen Phase einer bakteriellen Meningitis und einen von 5% bei einem

fünfjährigen Kind mit Mumps-Meningoenzephalitis. Markiert waren hauptsächlich die Zellkerne von Lymphocyten in der Transformationsphase. Am deutlichsten war dieser Befund bei viraler Meningitis. Bevorzugt werden auch sogenannte Lymphoidzellen markiert. Monocyten inkorporierten hauptsächlich in der Aktivierungsphase am Ende der exsudativen Phase einer bakteriellen Meningitis (KÖLMEL 1978).

Die vorliegenden Untersuchungsbefunde lassen eine Zuordnung autoradiographischer Befunde zu einzelnen Krankheitsbildern - sowohl in der Gruppe der entzündlichen wie in der Gruppe der nicht-entzündlichen Erkrankungen des ZNS - nicht zu. Übereinstimmung besteht mit den oben genannten Autoren darin, daß die Befunde bei den nicht-entzündlichen Erkrankungen zu unspezifisch sind um Rückschlüsse auf das Vorliegen bestimmter Krankheitsbilder zu ermöglichen. Bei den entzündlichen Erkrankungen sind die Ergebnisse der einzelnen Untersucher so unterschiedlich, daß richtungsweisende Aussagen nicht gemacht werden können.

4.3.2 Liquor bei frühkindlichem Hydrozephalus

In der Literatur waren nur wenige Untersuchungen über das Markierungsverhalten von Liquorzellen bei Erkrankungen, die mit Hydrozephalus einhergehen, zu finden.

YAMAKA, FUKUI et al. (1976) berichten von drei Patienten mit Hydrozephalus internus. Es waren Kinder im Alter von 1, 3 und 4 Jahren. Die Markierungsindices lagen bei 0,39%, 0,37% und 0,74%. Dies waren in ihrer Untersuchungsreihe die höchsten Markierungsindices bei nicht-neoplastischen Erkrankungen. In einer weiteren Arbeit (OHTA, FUKUI et al. 1977) sind vier Patienten mit Hydrozephalus - Markierungsindex zwischen 0,5% und 1,7% - erwähnt. Über das Alter der Patienten wurden keine Angaben gemacht.

DOMMASCH (1977) beschreibt in seiner Untersuchung einen 42jährigen Patienten mit Hydrozephalus. Bei ihm lag der Markierungsindex unter 0,1%.

Im Gegensatz zu diesen in der Literatur angegebenen Beobachtungen über das Markierungsverhalten der Liquorzellen bei Hydrozephalus im frühkindlichen Alter waren die in dieser Untersuchung erzielten Markierungsindices sehr viel höher. Schon YAMAKA, FUKUI et al. (1976) betonen, daß die von ihnen gefundenen Markierungsindices (0,39-0,74%) die höchsten in der Reihe der nicht-neoplastischen Erkrankungen waren. Dies wird in der vorliegenden Untersuchung bestätigt. Es ist darüber hinaus festzustellen, daß die hier beobachteten Markierungsindices in einer Größenordnung von 1,8 bis 4,4% nach den sekundären Hirntumoren die höchsten waren. Sie liegen damit deutlich höher als die in der Literatur angegebenen. Welche Rolle dabei die 'Begleiterkrankungen' (Pat. LIII, Tumorverdacht und Pat. LIV, Colimeningoenzephalitis) spielen, kann nicht beantwortet werden. Am ehesten scheint dieses Ergebnis mit einer erhöhten Proliferationsrate der Zellen bei Kleinkindern erklärbar zu sein.

4.4 Meningiosis leucämica

Veröffentlichungen über autoradiographische Untersuchungen bei Leukosen, die mit einer Beteiligung der Meningen einhergehen, liegen nur vereinzelt vor.

OHTA, FUKUI, YAMAKA et al. (1977) berichten in ihrer Arbeit auch über 4 Fälle einer meningealen Leukämie. Die dabei erzielten Markierungsindices lagen zweimal bei 2%, einmal bei 7% und die höchste Markierung mit 11,6% fanden sie bei einem sechs Jahre alten Kind, das an Leukämie erkrankt war. Höhere Markierungsraten als diese fanden sie nur noch bei einem Retikulumzellsarkom und einem Pinealom.

Zu ähnlichen Ergebnissen kommen DOMMASCH et al. (1977). Hier betrugen die Markierungsindices acht und zehn Prozent bei einer Meningiosis leucämica (myeloblastisch) und bei einer lymphoblastischen Form. Unter

einer cytostatischen Therapie mit Cytosin-Arabinosid machen DOMMASCH et al. die Beobachtung, daß es zu einem zögernden Rückgang des Tumorzellanteils von 94% auf 87% kommt. Drastisch dagegen ist der Abfall der Gesamtzellzahl von über 4000/3 Zellen auf 300/3 Zellen und schließlich auf 14/3 Zellen; ebenso rapide fällt der Markierungsindex von 8% über 4 und 2% auf 0,5% ab. Die Autoren ziehen daraus den Schluß, daß sich die Autoradiographie gut zur Verlaufskontrolle bei cytostatischer Therapie eignet.

KÜLMEL (1978) beschreibt einen Fall einer Monozytenleukämie mit einem Markierungsindex von 8%; zwei Fälle einer akuten Leukämie mit einem Markierungsindex von 6,8 und 4,5%, einen Fall einer Myeloblastenleukämie mit 2,4% und zwei Fälle einer Lymphoblastenleukämie mit 2,4 und 2,2% markierter Zellen.

Die in der vorliegenden Untersuchung (siehe Tabelle 6, S. 30 und S. 57 und 58) ermittelten Markierungsindices waren in der Regel sehr viel niedriger als die in der Literatur beschriebenen. Sie bewegten sich in einer Größenordnung von 1 bis 2,4%. Nur einmal konnte bei einer Monozytenleukämie (Präp. 139) mit 8% ein hoher Markierungsindex festgestellt werden.

Der Hauptgrund für die niedrige Markierungsrate ist sicher darin zu sehen, daß alle Präparate während einer cytostatischen Therapie angefertigt wurden. Dies erklärt auch die relativ niedrigen Zellzahlen. Bei Patient LXI (Präp. 149-155) ist die Wirksamkeit der cytostatischen Therapie am deutlichen Abfall der Zellzahl von über 800/3 auf 45/3 Zellen zu verfolgen. Der Markierungsindex fällt kontinuierlich innerhalb von 23 Tagen auf Null ab.

Alle Präparate aus dieser Gruppe wurden nach der Stripping-Methode (s.S.12) angefertigt. Ein Einfluß auf den Markierungsindex ist dadurch jedoch nicht zu erwarten.

Durch die cytostatische Therapie werden die Markierungsraten 'niedrig' gehalten. Dies erklärt die niedrigen Markierungsindices in der vorliegenden Arbeit. Nach den oben zitierten Untersuchungen kann davon ausgegangen werden, daß die Markierungsraten bei der Meningiosis leucämica nur unwesentlich niedriger liegen als bei der Meningitis carcinomatosa. In erster Linie werden Tumorzellen markiert; es kommt aber auch zur Markierung von großen, transformierten Lymphozyten.

4.5 Zum Problem der Vergleichbarkeit verschiedener Untersuchungen

Die einzelnen Studien über die Autoradiographie bei Liquorzellen, die in dieser Arbeit diskutiert werden, sind nur sehr bedingt miteinander vergleichbar. Fast jeder Untersucher geht methodisch anders vor. DOMMASCH (1977) gibt dem Liquor ein Kulturmedium bei, um die Vitalität der Zellen zu erhöhen und fordert außerdem eine Vitalitätsbestimmung mit Trypanblau, um die einzelnen Präparate miteinander besser vergleichen zu können. OHTA, FUKUI et al (1977) gehen davon aus, daß sich eine Vitalitätsbestimmung erübrigt, weil in den meisten Fällen - bei rascher Verarbeitung der Liquorproben - die Vitalität über 90% beträgt. ENGELHARDT (1977) inkubiert bei Sauerstoffüberdruck, um die Schädigung der Zellen möglichst gering zu halten.

Zu fragen ist, ob die Zugabe eines Kulturmediums oder die Inkubation mit Sauerstoffüberdruck eher In-vivo-Bedingungen entspricht oder ob nicht die Vitalität der Zellen 'angeregt' bzw. verlängert wird, d.h. eine künstlich zu 'hohe' Umsatzrate erzielt wird.

Auch die Zelldifferenzierung wird unterschiedlich gehandhabt: Während OHTA, FUKUI et al (1977) eine Dreiteilung in polymorphkernige Leukozyten, in kleine Lymphozyten und große Zellen vornehmen, teilt DOMMASCH (1977) die Zellen in polymorphkernige Leukozyten, in Lymphozyten/Plasmazellen, Monocyten/Histiocyten und in Tumorzellen ein. Die Beispiele könnten fortgesetzt werden.

Innerhalb der einzelnen Untersuchungen hat der Vergleich verschiedener Präparate miteinander mit größter Vorsicht zu erfolgen. Die Herstellung der autoradiographischen Präparate ist nicht standardisiert. Jedes Präparat wird unter anderen Bedingungen hergestellt: Die Zeiträume von der Punktion bis zum Eintreffen im Labor sind unterschiedlich lang, ebenso die Sedimentationszeiten usw. Quantitative Aussagen können unter diesen Umständen nicht gemacht werden. Die Ergebnisse müssen vielmehr als Tendenzen verstanden und als solche interpretiert werden.

5. ZUSAMMENFASSUNG

Es wurden 155 Liquorproben von 61 Patienten cytologisch untersucht und mit ^3H -Thymin inkubiert.

1. Eine Markierung läßt sich feststellen bei Lymphozyten, Monozyten und Tumorzellen. Nicht markiert wurden Granulozyten, Plexuszellen und Ependymzellen.
2. Am stärksten markiert waren Tumorzellen - hier die Zellen von Carcinomen und malignen Lymphomen. Eine geringere Markierungsgröße zeigten Lymphozyten; selten waren Monozyten markiert. Die geringste Markierungsbereitschaft zeigten die Zellen autochthoner Hirntumoren.
3. Die Höhe des Markierungsindex bei Hirn- und Meningealmetastasen entsprach der Progredienz des Krankheitsbildes.
4. Die ARG kann zur Verlaufskontrolle bei cytostatischer Therapie von meningealer Carcinomzellenaussaat genutzt werden. Die Steilheit des Abfalls des Markierungsindex ist ein guter Gradmesser für die Sensibilität des Tumors gegenüber dem Therapeutikum.
5. Lymphozyten und Monozyten sind im Liquor nicht-entzündlicher Erkrankungen (Aneurysmen, Zysten, Epilepsie, Schädel-Hirn-Traumen, Porencephalie) nur selten markiert.
6. Auffallend hoch ist der Markierungsindex bei Lymphozyten und Monozyten des Liquors bei Kleinkindern. Dies gilt als Hinweis auf die verhältnismäßig hohe Proliferationsrate der Lymphozyten und Monozyten in diesem Lebensabschnitt.

6. LITERATUR

- AMLACHER, E.: Autoradiographie in Histologie und Cytologie.
Gustav Fischer Verlag Stuttgart (1974)
- ANDRYSEK, O.; DVORAK, O.; STRONSKA, E.: In-vitro-Test zur Bestimmung der individuellen Empfindlichkeit bösartiger Geschwülste gegen zytostatische Therapie.
Nucl. Med. 9 663-669 (1971)
- APPEL, E.: Aspects of CSF cytology in some neurological diseases.
Rev. Roum. Neurolog. 10 371-383 (1973)
- BALHUIZEN, J. Chris et al.: Value of cerebrospinal fluid cytology for the diagnosis of malignancies in the central nervous system.
J. Neurosurg. 48 747-753 (1978)
- BECQUEREL, H.: C.R. Acad. Sci. 122 501 (1896a)
- BECQUEREL, H.: C.R. Acad. Sci. 122 420 (1896a)
- BELONGER, L.F. und C.P. LEBLOND: A method of locating radioaktive elements in tissues by covering histological sections with a photographic emulsion.
Endocrinology 39 8 (1946)
- BERRIMAN, R.W.; HERZ, R.H. und STEVENS, G.W.W.: A new photographic material - a high resolution emulsion for autoradiography.
British J. of. Radiol. 23 472 und 578 (1950)
- BISCHOFF, A.: Erfahrungen mit der Tumorzell Diagnostik im Liquor cerebrospinalis.
Acta Neurochir 9 510-524 (1961)
- BLEECKEN, S.: Untersuchungen des autoradiographischen Auflösungsvermögens mit Strahlungsquellen verschiedener Betaenergien.
Atompraxis 7 321 (1961)
- BOTS, G.; WENT, L.N.; SCHABERG, A.: Results of sedimentation technique for cytology of cerebrospinal fluid.
Acta cytol. (Philad.) 8 234-241 (1964)
- BREITENECKER, G. und TATRA, G.: Histoautoradiographische Untersuchungen während der Strahlentherapie des Zervixkarzinoms.
Strahlentherapie 146 664-670 (1973)

- CAMERON, J.L.: Is the duration of DNA synthesis in somatic cells of mammalian and birds a constant?
J. Cell Biol. 20 185 (1964)
- CARO, C.G. und VAN TUBERGEN, R.P.: High-resolution autoradiographie.
I. Methods J. Cell Biol. 15 173 (1962)
- CHIGASAKI, H.: Studies of the DNA synthesis function of glial cells by means of ^3H -thymidine microradioautography.
Brain and nerve (Tokyo) 15 767-784 (1963)
- CLEAVER, J.E.: The relationship between the duration of the S-phase and the fraction of cells with incorporate ^3H -thymidine during exponential growth.
Exp. Cell. Res. 39 697 (1965)
- DOMMASCH, D.: Liquorzell Diagnostik unter Anwendung von Spezialfärbungen, Autoradiographie und Zellkulturen.
Unveröffentlicht. 1977
- DOMMASCH, D; GRÜNINGER, W.; SCHULTZE, B.: Autoradiographic Demonstration of Proliferating Cells in Cerebrospinal Fluid.
J. Neurolog. 214 97-112 (1977)
- ENGELHARDT, P.: Liquorzytologie bei Hirntumoren.
Unveröffentlicht. 1977
- ENGELHARDT, P.: Intrathecal Cytostatic Therapy of Meningeal Carcinomatosis - Autoradiographic Investigation of the CSF Cells.
J. Neurolog. 213 309-315 (1976)
- ENGELHARDT, P. und PATZOLD, U.: Liquorzytologischer Nachweis von primären und sekundären Geschwülsten des ZNS.
J. Neurol. 209 45-57 (1975)
- FEAUX DE LACROIX, W.; KLEIN, P.J.; KLEIN, H.O.; LENNARTZ, K.J.: Vergleichende autoradiographische Untersuchungen an einem teils differenzierten und einem anaplastischen transplantablen Mammacarcinom der Maus.
Beitr. Path. 150 287-297 (1973)
- FISCHER, H.A.; WERNER, G.: Autoradiographie.
Walter de Gruyter u. Co. Berlin 1971
- FUKUMA, S.; TAKETOMO, S.; UEDA, S. et al.: Autoradiographic studies on human brain tumors by in vivo local labeling with ^3H -thymidine.
Brain and nerve (Tokyo) 21 1029-1035 (1969)

- FUKUI, M.; YAMAKA, Y.; YAMASAKI, T.; et al.: ^3H -Thymidine Autoradiography of CSF Cells in Primary Reticulum Cell Sarkoma of the Brain.
J. Neurol. 210 143-150 (1975)
- HOSHINO, T.; BARKER, M.; WILSON, C.B.; BOLDREY, E.B.; FEWER, D.: Cell kinetics of human gliomas.
J. Neurosurg. 37 15-26 (1972)
- JOFTES, D.L. und WARREN, Sh.: Simplified liquid emulsion radiographic.
J. biol. Photogr. Ass. 23 145 (1955)
- JOFTES, D.L.: Radioautography, principles and procedures.
J. Nucl. Med. 4 143 (1963)
- JOHNSON, H.A.; HAYMAKER, W.E.; RUBINI, J.R.: A radioautographic study of a human brain and glioblastoma multiforme after the in vivo uptake of tritiated thymidine.
Cancer (Philad.) 13 636-642 (1960)
- KISELEWA, E.G.: Autoradiographic studies of Walker carcinosarkoma and its metastases.
Vop. Onkol. 19 86-90 (1973)
- KLEIN, H.O.; LENNARTZ, K.J.; GROSS, R.; EDER, M.; FISCHER, R.: In-vivo und In-vitro Untersuchungen zur Zellkinetik und Synchronisation menschlicher Tumorzellen.
Dtsch. med. Wschr. 37 1273-1282 (1972)
- KLEIN, H.O.; GERECKE, A.; BORGERG, H.; GROSS, R.; u.a.: Ergebnisse der Synchronisationstherapie mit Vincristin und Cyclophosphamid bei Lymphogranulomatose, Retikulumzell- und Lymphosarkom.
Dtsch. med. Wschr. 00 1719-1726 (1975)
- KÖLMEL, H.W. und B. CHONÉ: Tumorzellen im Liquor - Ein Beitrag zur differenzierten Cytodiagnostik.
Nervenarzt 43 644-645 (1972)
- KÖLMEL, H.W.: Die Autoradiographie in der Liquorzell Diagnostik.
Unveröffentlicht (1977)
- KÖLMEL, H.W.: Atlas of Cerebrospinal Fluid Cells.
Berlin-Heidelberg-New York 1977
- KÖLMEL, H.W. und B. CHONÉ: Combined Application of Cytodiagnostik Technics of the Cerebrospinal Fluid.
J. Neurol. 216 1-8 (1977)
- KÖLMEL, H.W.: A method for concentrating cerebrospinal fluid cells.
Acta cytologica 21 154-157 (1977)

- KÜLMEL, H.W.: Autoradiographische Befunde an Liquorzellen.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 225 283-290 (1978)
- KÜLMEL, H.W.: Die Zellpräparation bei Flüssigkeiten mit niedrigem Zellgehalt - Methodischer Beitrag am Beispiel des Liquor cerebrospinalis.
Lab. med. 3 32-35 (1979)
- KURY, G. und CARTER, H.W.: Autoradiographic study of human nervous system tumors.
Arch. Path. 80 38-42 (1965)
- LEBLOND, C.P.; KOPRIWA, B. und L. MESSIER: Radioautography as a histochemical tool. In: Histochemistry and cytochemistry.
(Proc. first Intern. Congresses Paris 1969; Ed. Wegmann E), Symoos. Publ. Div. 1. Oxford-London-New York-Paris, Pergamon Press 1963
- LENNARTZ, K.J.; SCHIMMELFELDER, W. und MAURER, W.: Dauer der DNS Synthesephase bei Aszitestumoren der Maus unterschiedlicher Ploidie.
Naturw. 53 21 (1966)
- LENNARTZ, K.J. und MAURER, W.: Autoradiographische Bestimmung der Dauer der DNS Verdoppelung und der Generationszeit beim Ehrlich-Aszites Tumor der Maus durch Doppelmarkierung mit C_{24} und 3H -Thymidin.
Acta histochem. Suppl. VIII 89 (1968)
- LONDON, E.S.: Arch. Elect. méd. 12 363 (1904)
- LONDON, E.S.: Russki Vrach (St. Petersburg) 3 869 (1904)
- MESSIER, B. und LEBLOND, C.P.: Preparation of coated radioautographs by dipping section in fluid emulsions.
Proc. Soc. exp. Biol. (N.Y.) 96 7 (1957)
- NASS, M.M; NASS, S. und B.A. AFZELIUS: The general occurrence of mitochondrial DNS.
Exp. Cell. Res. 37 516 (1965)
- OEHMICHEN, M.: Cerebrospinal fluid cytology.
Stuttgart: G. Thieme Verlag 1976
- OHTA; FUKUI; YAMAKA et al.: A Study of CSF Cells by 3H -Thymidine Autoradiography and Cytology Regarding the Subarachnoidal Dissemination of Brain Tumor.
Arch. Psychiat. Nervenkr. 225 (1977)
- PELC, S.R.: The stripping film technique of autoradiography.
Int. J. appl. Radiat. 1 172 (1956)

- ROGERS, A.: Techniques of autoradiography.
Amsterdam-London-New York Elsevier Publishing Comp.
1967
- SAYK, J.: Cytologie der Cerebrospinalflüssigkeit.
Jena-Fischer 1962
- SAYK und OHLISCHER: Fortschritte der Liquorzytologie bei der Diagnostik bösartiger Hirngeschwülste. (3. Mitteilung)
Psychiatr. Neurol. Med. Psychol. (Leipzig) 19 88-99
(1967)
- SCHULTZE, B.: Autoradiography at the cellular level.
Physikaltechniques in biological research.
Hrsg. Pollister, A.W. New York-London, Academic
Press 1969
- STEVENS, G.W.: Resolution testing in Autoradiography.
Nature 161 432 (1948)
- STEVENS, G.W.: Radioactive microphotographs for resolution testing in autoradiography.
British J. Radiol. 23 723 (1950)
- WALLER, E.: The properties of nuclear emulsion in relation to autoradiography.
In: 1. European Sympos. on Autoradiography, Rom 1961
- WEISSBACH, G.: Das Liquorzellbild nach rachiperitonealen Ableitungsoperationen im Säuglingsalter.
Z. Kinderheilkunde 99 289-301 (1967)
- WILKINS, R.H. und ODOM, G.L.: Cytological changes in cerebrospinal fluid associated with resection of intracranial neoplasma.
J. Neurosurg. 25 24-34 (1966)
- YAMAKA, Y.; FUKUI, M.; OHTA, H.; VITAMURA, K.: ^3H -Thymidine Autoradiography of the CSF Cells in Cases of Non-Neoplastic Disease.
J. Neurol. 211 195-202 (1976)

LEBENS LAUF

Name: Wilhelm Thamm

geboren: 7.12.1950 in Wannweil/Reutlingen als 2. Kind
der Hedwig Thamm, geb. Brosig und des
Gustav Thamm; beide Arbeiter

Schulbildung: 1957 - 1960 Volksschule Wannweil
1961 - 1969 Joh.-Kepler-Gymnasium Reutlingen
1969 Hochschulreife
1969 - 1971 Ableistung des Zivildienstes

Studium: SS 1971 Beginn des Medizinstudiums in
Tübingen
WS 1971/72 Psychologiestudiumsbeginn
SS 1973 Ärztliche Vorprüfung Uni Tübingen
WS 1973/74 Diplomvorprüfung Psychologie
1975 Universitätswechsel Tübingen-Berlin
1977 Februar. Ärztliche Prüfung
1978/79 Diplomprüfung Psychologie

bisherige Tätigkeiten: Medizinalassistentenzeit im Krankenhaus Wilmers-
dorf, Universitäts-Kinderklinik der Freien Uni-
versität Berlin, Städtisches Krankenhaus Zehlen-
dorf.
Seit 1.9.79 Assistenzarzt im Krankenhaus Zehlen-
dorf, Innere Abteilung.

Dank

Herrn Priv.-Dozent Dr. med. H.W. Kölmel möchte ich für die Themenstellung, die vielseitige Förderung und freundliche Beratung sowie für die zahlreichen Anregungen und Hilfestellungen bei der Anfertigung dieser Arbeit meinen herzlichsten Dank aussprechen.
Frau Christine Ligner danke ich für die tatkräftige Unterstützung und Anleitung bei den Laborarbeiten.



